



UNIVERSIDADE TÉCNICA DE LISBOA
Faculdade de Medicina Veterinária

Efeito da Administração Conjunta de uma Cefalosporina e de
uma PGF_{2α}, às 0-12 horas Pós-Parto, sobre os Índices
Reprodutivos de Vacas da Raça Holstein-Frísia nos Açores

Francisco Pimentel Costa

CONSTITUIÇÃO DO JÚRI:

Doutor Luís Filipe Lopes da Costa

Doutor Rui José Branquinho de Bessa

Doutor João Nestor das Chagas e Silva

Dr. João Manuel Raposo Vidal

ORIENTADOR

Dr. João Manuel Raposo Vidal

CO-ORIENTADOR

Doutor João Nestor das Chagas e Silva

2011

Lisboa



UNIVERSIDADE TÉCNICA DE LISBOA
Faculdade de Medicina Veterinária

Efeito da Administração Conjunta de uma Cefalosporina e de
uma $\text{PGF}_{2\alpha}$, às 0-12 horas Pós-Parto, sobre os Índices
Reprodutivos de Vacas da Raça Holstein-Frísia nos Açores

Francisco Pimentel Costa

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA VETERINÁRIA

CONSTITUIÇÃO DO JÚRI:

Doutor Luís Filipe Lopes da Costa

Doutor Rui José Branquinho de Bessa

Doutor João Nestor das Chagas e Silva

Dr. João Manuel Raposo Vidal

ORIENTADOR

Dr. João Manuel Raposo Vidal

CO-ORIENTADOR

Doutor João Nestor das Chagas e Silva

2011

Lisboa

Agradecimentos

Desde já queria agradecer ao meu co-orientador, Doutor João Nestor das Chagas e Silva, por todo o tempo dispendido na co-orientação desta tese de mestrado, por todo o seu incansável apoio, disponibilidade e transmissão de conhecimentos que, com certeza, enriqueceram de todas as formas este trabalho e a mim próprio.

Queria agradecer ao meu orientador, Dr. João Raposo Vidal, que durante 4 meses me acolheu no seu jipe, transmitindo-me todos os seus conhecimentos tanto profissionais como morais, todo o seu apoio, compreensão e disponibilidade durante este estágio, com o qual tanto aprendi.

Queria também agradecer todos os constituintes do corpo clínico da Cooperativa União Agrícola, em especial o Dr. Nuno Mota e o Dr. Rui Sousa, não descurando os restantes, por toda a ajuda que me deram e por toda a sua disponibilidade dispendida.

Queria também demonstrar o meu agradecimento à Doutora Isabel Neto, por todo o tempo dispendido e por toda a ajuda e esclarecimentos no campo da estatística, porque sem eles tudo se tornaria mais complicado.

Queria agora agradecer às duas pessoas que tornaram tudo isso possível, os meus **PAIS**, que de forma incansável lutaram para que eu tivesse todas as condições e possibilidades para tirar o curso que sempre quis, que me acompanharam por toda esta jornada sempre a meu lado e por quem tenho todo o carinho, amor e respeito...um **OBRIGADO POR TUDO**. Vocês são fantásticos!

Queria agradecer à minha **MARIA**, que sendo a minha protectora, tudo faz para que eu vingue da melhor maneira, e que por todos os seus conselhos e atenção eu tenho um enorme carinho, respeito e confiança...Sei que posso contar sempre contigo!

E agora à pessoa por quem tenho todo o amor, confiança, carinho, amizade, a Rafaela, um enorme agradecimento por ter estado, sempre e incondicionalmente, a meu lado mesmo que isso implicasse mudar o “mundo”, por ter sempre acreditado em mim, por ser uma companheira para toda a vida...por ser sempre a minha **GAROTA**!

Não podia também deixar de agradecer a todos os meus **AMIGOS**, quer de infância, quer de curso, quer ainda da vida! Não nomeio ninguém com medo de não me lembrar de todos ou de me esquecer de algum. Foram todos muito importantes para percorrer todo este percurso.

Quero agradecer a toda a minha **FAMÍLIA**, tios, primos, padrinhos e madrinhas e avós, com um especial agradecimento à minha avó materna por tudo o que me ensinou, por todos me terem ajudado a ser quem sou hoje.

E por último, mas não menos importante, quero também agradecer a todos os **ANIMAIS** com quem tive o prazer de partilhar e de cruzar a minha vida. Tudo isto foi por eles!

É assim...posso considerar-me um sortudo:

» **PAIS, MARIA, GAROTA, AMIGOS, FAMÍLIA e ANIMAIS ... OBRIGADO POR TUDO !! «**

Resumo

Efeito da Administração Conjunta de uma Cefalosporina e de uma PGF_{2α}, às 0-12 horas Pós-Parto, sobre os Índices de Reprodutivos de Vacas da Raça Holstein-Frísia nos Açores

O objectivo deste estudo foi o de avaliar os efeitos da administração conjunta do Ceftiofur (Naxcel[®], na dose de 6,6 mg/Kg PV por animal, 1 mL por 30 Kg PV, via subcutânea) e de uma PGF_{2α} (Dinolytic[®], 5 mL por animal, correspondente a 25 mg de Dinoprost Trometamina, via intramuscular) entre as 0-12 horas pós-parto, nos índices reprodutivos de um efectivo de bovinos leiteiros da raça Holstein-Frísia, na ilha de São Miguel, Açores. Foram utilizados dois grupos de fêmeas, recém paridas (critérios de exclusão: animais que desenvolveram prolapsos uterinos ou que tiveram resolução do parto por cesariana), em que um dos grupos foi sujeito ao tratamento (n=10) e o outro serviu de grupo de controlo (n=17), não tendo sido tratado.

Foram avaliados nos dois grupos o intervalo parto-1^a IA e parto-IA fecundante, a taxa de gestação tendo em conta o número de lactações, número de serviços realizados, índice de concepção e taxa de gestação ao primeiro serviço. Após a análise estatística dos resultados, verificou-se não haver diferenças significativas ($p>0,05$) entre os dois grupos, muito possivelmente devido ao reduzido número da amostra (n=27). Ainda assim, no que diz respeito aos intervalos parto-1^a IA e parto-IA fecundante, verificou-se um ganho de dias em aberto nos animais sujeitos ao tratamento contrariamente ao verificado no grupo de controlo. Relativamente ao número de animais gestantes ao diagnóstico por palpação rectal, parece ter havido melhores resultados nas vacas tratadas. No entanto, pouco se pode concluir acerca deste parâmetro em animais múltiparos e primíparos, muito provavelmente devido à escassez da amostra. Também parece terem sido atingidos melhores resultados quanto ao número de serviços por animal, com as vacas que foram sujeitas ao tratamento. No que se refere ao índice de concepção e taxa de gestação ao primeiro serviço, o grupo de animais tratado obteve resultados numericamente melhores que o grupo não tratado.

Deste modo, e como pouco se poderá efectivamente concluir, com base no tratamento estatístico, acerca dos efeitos desta terapêutica sobre os índices reprodutivos analisados, outros estudos prospectivos deverão ser realizados com uma amostra maior e com um desenho experimental mais completo, de forma a incluir um maior número grupos em análise, para se avaliar da eventual diferença entre tratamentos com os fármacos, isoladamente.

Palavras Chave: Pós-parto; Índices reprodutivos; Ceftiofur; PGF_{2α}.

Abstract

The effect of a joint administration of Ceftiofur and PGF_{2α}, between 0-12 hours after calving, on reproductive indices in cows of Holstein-Friesian breed, in Azores

The objective of this study was to evaluate the effects of a joint administration of Ceftiofur (Naxcel®, 6.6 mg/Kg of BW per animal, 1mL by 30Kg of BW, subcutaneously) and PGF_{2α} (Dinolitic®, 5mL per animal, corresponding to 25 mg of Dinoprost Trometamine, intramuscular), given 0-12 hours after calving, on the reproductive indices of Holstein-Friesian dairy cows, in the island of São Miguel, Azores.

It was evaluated in both groups, the interval calving-1st AI and calving-1st fertile AI, pregnancy rate in both groups taking into account the number of lactations, number of services performed, conception rate and pregnancy rate to first service. After statistical analysis, we found no significant differences ($p>0.05$) between the two groups, most likely due to the small sample size ($n = 27$). Still, with regard to the interval calving-1st AI and calving-1st fertile AI, there was an open day gain in treated cows, contrary to which was found in the control group. For the number of pregnant animals at pregnancy diagnosis by rectal palpation, it is likely to obtain better results in treated animals, however, little can be concluded about this parameter in multiparous and primiparous cows, probably due to the small number of females in study. Animals that were subjected to treatment also appear to achieve better results in the number of services per animal. In concern about conception rate and pregnancy rate to first service, the group of treated animals, also achieved results, considerably, better than the untreated group.

Therefore, and as we were not able to conclude much, based on statistics, about the effects of this treatment on those reproductive indices, in the future studies it could be suggested to be settled on a prospective way, with a larger sample and a more complete experimental design, which may include more groups to record any possible difference with the pharmaceutical products alone.

Keywords: Postpartum; Reproductive indices; Ceftiofur; PGF_{2α}.

Índice

I. Introdução.....	1
II. Revisão Bibliográfica	3
1. Fisiologia reprodutiva da vaca.....	3
1.1. Ciclo éstrico	3
1.2. Regulação endócrina do ciclo éstrico	5
1.3. Dinâmica folicular	9
2. Período pós-parto na vaca	11
2.1. Involução uterina.....	12
2.2. Reparação e renovação do endométrio	14
2.3. Reinício da actividade ovárica.....	15
2.4. Eliminação das bactérias contaminantes do útero.....	19
2.5. Papel da PGF _{2a} no PP	22
2.6. Doenças infecciosas mais comuns associadas ao PP	23
3. Fertilidade	33
3.1. Índices reprodutivos	34
3.2. Factores que afectam a fertilidade	38
III. Trabalho experimental	42
1. Objectivos	42
2. Desenho experimental	42
3. Materiais e métodos.....	42
3.1.Caracterização da exploração em estudo	42
3.1.1. Maneio Geral	42
3.1.2. Maneio alimentar.....	43
3.1.3. Maneio reprodutivo	44
3.1.4. Animais	44
3.1.5. Substâncias utilizadas no ensaio clínico	45
3.1.6. Detecção de cios.....	46
3.1.7. Análise estatística dos resultados	47
4. Resultados	48
4.1. Relação entre o intervalo parto - 1ªIA e parto-IA fecundante e animais tratados e não tratados.....	48
4.2. Resultado do diagnóstico de gestação em animais com apenas uma lactação, tratados e não tratados	49
4.3. Resultado do diagnóstico de gestação em animais com mais do que uma lactação, tratados e não tratados	50
4.4. Relação entre o diagnóstico de gestação e os animais tratados e não tratados.....	51
4.5. Relação entre o número de serviços realizados em animais tratados e não tratados e o diagnóstico de gestação.....	51
4.6. Índice de concepção	53
4.7. Taxa de gestação ao primeiro serviço.....	53
4.8. Eficiência na detecção de cios	54
5. Discussão	55
6. Conclusão	63
IV. Bibliografia.....	65
V. Anexos.....	72

Índice de Figuras

Fig. 1 – O gráfico ilustra a percentagem de ocorrência dos sinais de cio num grupo experimental de 100 animais (Legenda: FI: Flehmen; Sn: cheirar a vulva de outras vacas; CR: apoiar o queixo no dorso de outras vacas; BM: deixar-se montar; Mo; montar outras vacas; MH: montar outras vacas pelo lado da cabeça). Adaptado de Roelofs <i>et al.</i> (2005). ..	4
Fig. 2 – Nesta figura estão ilustrados os padrões de secreção das hormonas FSH, LH e P ₄ durante um ciclo éstrico de 21 dias de duração nos Bovinos (<i>Bos taurus</i>). Está também esquematizado o padrão de desenvolvimento folicular durante esses 21 dias. Adaptado de Forde <i>et al.</i> (2011).	7
Fig. 3 – Na imagem está ilustrado o mecanismo recrutamento, de selecção e de dominância do folículo ovulatório. Extraído de Ginther, Wiltbank, Fricke, Gibbons & Kot, (1996).....	11
Fig. 4 – a imagem da esquerda (A) corresponde às variações sofridas pelo útero quanto ao comprimento e peso, nos primeiros 20 dias PP; A imagem da direita (B) representa a alteração no volume da lóquia no mesmo período de tempo. Extraído de Senger (2005).	13
Fig. 5 – Nesta imagem estão ilustrados os principais eventos que ocorrem no útero do parto até à concepção. Extraído de Senger (2005).	21
Fig. 6 – A imagem ilustra a incidência das doenças bacterianas no útero no PP. Os círculos representam as bactérias que são isoladas no útero das vacas no PP. A área a vermelho representa a percentagem de animais com metrites, a laranja representa os animais com endometrites clínicas e a azul, os animais que desenvolveram um PP normal, sendo que a restante área a branco representa os animais que desenvolveram endometrites subclínicas. Extraído de Sheldon, Cronin, Goetze, Donofrio & Schuberth (2009).	24
Fig. 7 – Esquema representativo dos constituintes base da alimentação dos animais na exploração em estudo e das suas quantidades médias.	43
Fig. 8 – Imagem ilustrando a administração subcutânea de Naxcel® atrás da orelha, na junção com a cabeça, assim como a linha imaginária para onde se deve apontar a seringa (bula naxcel).	45
Fig. 9 – (A) Método complementar de detecção de cios implementado no ensaio clínico. Imagens obtidas pelo autor (2011); (B) Imagem de um marcador semelhante ao utilizado no ensaio clínico.	47

Índice de Tabelas

Tabela 1. As três categorias de bactérias mais encontradas no útero, organizadas de acordo com a sua patogenicidade	20
Tabela 2 – Abordagem diagnóstica e sinais clínicos de infecções uterinas em vacas. Extraído de Marques Júnior, Martins & Borges (2011).....	30
Tabela 3. Tabela onde estão representados os valores que, de acordo com os autores Parkinson & Noakes (2001), são considerados desejáveis de se atingir.....	37
Tabela 4 – Representando os valores de análise descritiva da amostra de animais em estudo.....	45
Tabela 5 – Apresentação do número máximo, mínimo, médio de dias, o desvio padrão e a mediana, entre o parto e a 1ª IA e entre o parto -IA fecundante, em animais tratados e não tratados.....	48
Tabela 6. Resultados do diagnóstico de gestação em vacas primíparas, tratadas e não tratadas.....	50
Tabela 7. Resultados do diagnóstico de gestação em vacas múltiparas, tratadas e não tratadas.....	50
Tabela 8. Relação entre o diagnóstico de gestação e animais tratados e não tratados	51
Tabela 9. Valores percentuais e numéricos da distribuição de resultados do número de serviços/animal, tratado ou não, e o resultado dos respectivos diagnósticos de gestação... 51	51
Tabela 10. Resultado do índice de concepção para os dois grupos em estudo	53
Tabela 11. Resultado para a taxa de gestação ao primeiro serviço para os dois grupos em estudo.....	54
Tabela 12. Percentagem de animais gestantes e não gestantes ao diagnóstico de gestação.	54
Tabela 13. Representação em forma de tabela dos índices reprodutivos calculados para os grupos "Tratado" e "Não Tratado", assim como o intervalo alvo a atingir.....	60
Tabela 14. Referência aos preços por dose de produto farmacêutico utilizado no estudo, por 1L de leite produzido na exploração, assim como a produção leiteira média por animal.....	62
Tabela 15. Folha de Excel® que serviu de base de dados para a realização de cálculos, gráficos e tabelas, apresentados no capítulo dos resultados (ponto 4. do trabalho experimental).....	73

Índice de Gráficos

Gráfico 1. Representação gráfica da média (em dias) para os intervalos parto-1ªIA e parto-IA fecundante em animais tratados e não tratados, com um intervalo de confiança de 95%.	49
Gráfico 2. Número de serviços realizados em animais tratados e não tratados, gestantes e não gestantes.	52
Gráfico 3. Resultados do diagnóstico de gestação em animais tratados e não tratados	72
Gráfico 4. Representação gráfica da relação entre animais tratados e não tratados com o diagnóstico de gestação, em animais múltiparos.....	72
Gráfico 5. Representação gráfica da relação entre animais tratados e não tratados com o diagnóstico de gestação, em animais primíparos.....	72

Índice de abreviaturas, siglas e símbolos

% - Percentagem

°C – Graus (Celsius)

€ - Euro

AINE – Anti-Inflamatório Não Esteróide

BEN – Balanço Energético Negativo

BVD – Diarreia Viral Bovina

CL – Corpo Lúteo

cm – Centímetro (s)

E₂ – Estradiol

EDC – Eficácia na Detecção de Cios

FD – Folículo Dominante

FSH – Hormona Folículo-estimulante (Follicle Stimulating Hormone)

GnIH – Gonadotrophin Inhibitory Hormone

GnRH – Gonadotrophin Releasing hormone

h – Horas

i.e. – isto é

IA – Inseminação Artificial

IBR – Rinotraqueíte Infecciosa Bovina

IGF-1 – Factor de Crescimento Insulínico-1

IGF-2 – Factor de Crescimento Insulínico-2

IGFBP - proteínas transportadoras das IGF

IU - Intrauterina

Kg – Quilograma (s)

L – Litro (s)

LH – Hormona Luteinizante (Luteinizing Hormone)

m – Minutos

mg – Miligrama (s)

mL – Mililitro (s)

MS – Matéria Seca

P₄ – Progesterona

PGF_{2α} – Prostaglandina F_{2α}

PGE₂ – Prostaglandina E₂

PGFM – Metabolitos da PGF_{2α}

PP – Pós-Parto

PV – Peso Vivo

RI – Reflexo de Imobilização

RP – Retenção Placentária

I. Introdução

A presente dissertação foi realizada no âmbito do estágio curricular do Mestrado Integrado em Medicina Veterinária. O estágio, desenvolvido na área da Reprodução de bovinos leiteiros e Clínica de espécies pecuárias, teve lugar na Cooperativa União Agrícola na ilha de São Miguel nos Açores, sob co-orientação do Doutor João Nestor das Chagas e Silva e orientação do Dr. João Manuel Raposo Vidal, no período que decorreu entre o dia 1 de Fevereiro de 2011 e o dia 1 de Junho do mesmo ano, o que perfaz um total de 720 horas.

O estágio baseou-se no acompanhamento do médico veterinário Dr. João Vidal na sua actividade diária como profissional de campo, tendo também tido oportunidade de acompanhar outros médicos veterinários da casa. A Cooperativa União Agrícola presta serviço veterinário a cerca de 90% das explorações bovinas leiteiras da ilha de São Miguel, o que possibilitou a observação e acompanhamento de inúmeros casos clínicos com uma enorme casuística. Os casos mais frequentes foram doenças metabólicas (como hipocalcémias e cetoses), doenças infecciosas no período pós-parto (retenções placentárias, metrites e endometrites) e distúrbios alimentares (acidose ruminal e alguns casos de intoxicação alimentar por plantas tóxicas). As doenças do úbere também foram muito frequentes, sendo a de maior prevalência as mastites, registando-se também alguns casos de traumatismos do úbere. Muitas intervenções na área da reprodução foram assistidas e realizadas, nomeadamente no âmbito da execução de diagnósticos de gestação por palpação rectal, lavagens uterinas, programas de sincronização de cios, aconselhamento na escolha de touros reprodutores para compra de sêmen, assim como o acompanhamento do programa reprodutivo de diversas explorações. Procedeu-se a muitas intervenções tocológicas em partos distócicos, a maior parte delas com resolução manual e um número bem mais reduzido por cesarianas. Realizaram-se igualmente vários procedimentos cirúrgicos como correcções do deslocamento do abomaso à direita e à esquerda, redução de hérnia e enucleação de olho e resolução de prolapso uterino. Durante o estágio frequentei um curso de reprodução exclusivo para os profissionais veterinários da Cooperativa União Agrícola, leccionado pelo Dr. João Vidal, onde obtive aproveitamento final positivo. Para além do acompanhamento do médico veterinário, parte do tempo foi também passado nas explorações onde o estudo experimental foi realizado, e onde se procedeu à administração das substâncias em estudo, assim como, a aplicação de um método complementar de detecção de cios e a realização dos respectivos diagnósticos de gestação dos animais em estudo. Foram duas as explorações onde o estudo experimental foi realizado: a exploração pertencente ao Dr. António Estrela Rego (médico veterinário), localizada no Cabouco, de Lagoa, que contava com um efectivo de cerca de 260 animais em produção; a outra exploração pertencente ao Sr. Luís Mota, e situada na zona de Fajã de Cima, e com um efectivo de cerca de 120 animais em produção. Ambas as explorações com aptidão leiteira, eram possuidoras exclusivamente de animais da raça Holstein-Frísia.

Durante o estágio e aquando da elaboração desta dissertação, apercebi-me de que a fertilidade e o manejo reprodutivo são os pilares fundamentais para um bom funcionamento de uma exploração de bovinos leiteiros e também dos principais pilares económicos desta actividade. Em São Miguel, a fertilidade e o manejo reprodutivo são áreas onde muito falta ser feito para que se obtenha uma adequada eficiência reprodutiva, que permita ao produtor atingir bons registos, sempre com vista ao aumento da rendibilidade dos recursos disponíveis, e por conseguinte, um aumento da rendibilidade económica do produtor. Assim sendo, este foi um assunto que me suscitou muito interesse, e daí o tema escolhido para esta dissertação

O presente trabalho tem como tema “Efeito da Administração Conjunta de uma Cefalosporina e de uma $\text{PGF}_{2\alpha}$, às 0-12 horas Pós-Parto, sobre os Índices de Reprodutivos de Vacas da Raça Holstein-Frísia nos Açores”, e está dividido em duas partes: a primeira consiste numa revisão bibliográfica, que inclui a fisiologia reprodutiva da vaca, o período pós-parto na vaca e a fertilidade da fêmea bovina leiteira; na segunda parte estão incluídos o material e métodos, a apresentação e interpretação dos resultados obtidos, a sua discussão e posteriores conclusões.

II. Revisão Bibliográfica

1. Fisiologia reprodutiva da vaca

1.1. Ciclo éstrico

Antes de ser abordado o ciclo éstrico propriamente dito, pensamos ser de extrema importância referir alguns aspectos anatómicos e fisiológicos relativos ao hipotálamo, hipófise e ovários, bem como as suas interações.

A regulação da actividade cíclica está maioritariamente sob a influência do eixo Hipotálamo-Hipófise-Ovário (Noakes, 2001a). O hipotálamo encontra-se situado na base do tronco cerebral, posteriormente ao local por onde entram os nervos ópticos, formando o quiasma óptico. É importante referir que a actividade do hipotálamo é controlada por numerosas conexões nervosas dos centros superiores do cérebro (Ball & Peters, 2004a). O hipotálamo controla a libertação de gonadotrofinas pela hipófise anterior através da produção de substâncias libertadoras ou inibitórias das mesmas (Gonadotrophin releasing hormone – GnRH - e Gonadotrophin Inhibitory Hormone – GnIH). Estudos recentes revelaram a existência desta gonadotrofina, GnIH, em bovinos (Clarke & Smith, 2010). Estas substâncias são produzidas por neurónios hipotalâmicos e transportadas até à hipófise anterior, através de um complexo denominado Sistema Portal Hipotalâmico-Hipofisário (Noakes, 2001a).

A hipófise ou pituitária localiza-se numa cavidade do osso esfenóide - *sella turcica* – e pode dividir-se em duas porções, a anterior, adeno-hipófise e a posterior, neuro-hipófise (Junqueira & Carneiro, 2004). A adeno-hipófise é responsável pela produção de diversas hormonas. Entre elas encontram-se a Hormona Folículo-Estimulante (Follicle Stimulating Hormone – FSH) e a Hormona Luteinizante (Luteinizing Hormone – LH), que são as do nosso interesse. A neuro-hipófise é responsável pelo armazenamento de duas hormonas, a oxitocina e a vasopressina, que são produzidas nos núcleos supra-óptico e paraventricular do hipotálamo.

A FSH é a hormona responsável pelo início da actividade ovárica, pois é ela que estimula o crescimento e desenvolvimento dos folículos ováricos. Relativamente à LH, é uma hormona de extrema importância visto ser responsável pelo amadurecimento e ovulação do folículo antrico e também, secundariamente, responsável pela formação e manutenção do corpo lúteo (CL) (Ball & Peters, 2004a).

A vaca tem dois ovários, estando eles localizados, no útero não gestante, na parte latero-ventral da cavidade pélvica, cranialmente à tuberosidade ilíaca externa. As medidas do ovário são 3,5 x 2,5 x 1,5 cm, tendo aproximadamente o tamanho do último segmento distal de um polegar humano (Liebich & Budras, 2003).

Após a puberdade, o ciclo éstrico na vaca começa a ser regular e contínuo, normalmente durante quase todo o tempo de vida produtiva do animal, a não ser que seja interrompido pela gestação ou então, em caso de anestro por acção de factores externos, que possam

levar o animal a uma situação de balanço energético negativo, por exemplo (Wiltbank, Lopez & Sartori, 2005).

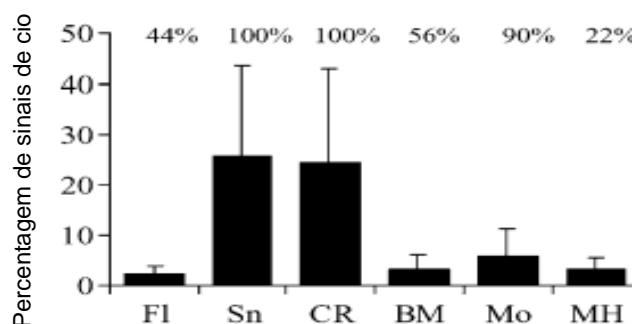
O ciclo éstrico na vaca normalmente dura cerca de 21 dias, no entanto pode variar entre 17 a 25 dias de duração (Stevenson, 2007)

Classicamente divide-se o ciclo éstrico em quatro fases distintas, sendo estas: o Estro (dia 0 do ciclo); o Metaestro (dias 1-4 após o estro); o Diestro (dias 5-17, é a fase mais longa do ciclo); e o Pró-estro (dias 18-20, final do ciclo).

O Pró-estro é o período que decorre mesmo antes do estro. Nesta fase do ciclo, há uma intensa actividade no sistema reprodutivo pelo facto de estar a decorrer o crescimento folicular, para preparar o novo folículo pré-ovulatório e, concomitantemente, está a ocorrer a regressão do corpo lúteo. Neste período, o endométrio apresenta-se mais congestionado e edematoso e as glândulas estão com as suas capacidades produtivas aumentadas. Relativamente à vagina, a sua mucosa está hiperémica, assim como as camadas celulares do epitélio começam a aumentar (Noakes, 2001a).

O Estro é caracterizado por ser o período de aceitação do macho por parte da fêmea ou seja, da exibição do reflexo de imobilização (RI) (Noakes, 2001a). É também neste período que a vaca exhibe vários sinais secundários característicos de cio, como o reflexo de Flehmen, montar outras vacas, cheirar a vulva a outras vacas, montar outras vacas pelo lado da cabeça, descansar o queixo no dorso de outras vacas, entre outros menos comuns (Roelofs, van Eerdenburg, Soede, & Kemp, 2005). Na Fig. 1 está ilustrado a percentagem de ocorrência destes sinais num grupo experimental de 100 vacas. Estes sinais comportamentais de estro normalmente duram cerca de 18 a 20 horas, ocorrendo a ovulação geralmente 10 a 12 horas depois do término do estro (Rathbone *et al.*, 2001). A vulva fica edemaciada e a membrana mucosa está hiperémica, vendo-se muitas vezes um fio de corrimento transparente pendente da vulva (Ball & Peters, 2004a).

Fig. 1 – O gráfico ilustra a percentagem de ocorrência dos sinais de cio num grupo experimental de 100 animais. Adaptado de Roelofs *et al.* (2005).



Legenda: FI: Flehmen; Sn: cheirar a vulva de outras vacas; CR: apoiar o queixo no dorso de outras vacas; BM: deixar-se montar; Mo: montar outras vacas; MH: montar outras vacas pelo lado da cabeça.

Durante o estro também ocorrem alterações físicas ao nível do útero, cérvix e vagina. Nesta altura, as glândulas produzem maiores quantidades de muco, os epitélios vaginal e uterino encontram-se hiperémicos e congestionados. A cérvix encontra-se relaxada (Noakes, 2001a).

Pouco após o início do metaestro ocorre a ovulação e a subsequente formação do corpo lúteo (Rathbone *et al.*, 2001). Nesta fase, dá-se uma redução significativa de produção de muco tanto no útero, como na cérvix e na vagina (Noakes, 2001a).

Para finalizar temos então o período mais longo do ciclo éstrico: o diestro. Este período é caracterizado pela existência de um corpo lúteo plenamente funcional e pela presença de níveis elevados de progesterona (Stevenson, 2007). Por definição o corpo lúteo é uma estrutura glandular responsável por manter os níveis elevados de progesterona na gravidez ou, no caso de não haver gestação, é responsável pela inibição de libertação de gonadotrofinas de modo a evitar uma nova ovulação e comportamentos de cio, novamente através da manutenção de elevados níveis de progesterona (Forde, Beltman, Lonergan, Diskin, Roche & Crowe, 2011). Nesta fase, as glândulas uterinas entram em hiperplasia e hipertrofia, com secreções pegajosas e escassas, a cérvix está fechada e contraída e, a mucosa vaginal torna-se pálida (Noakes, 2001a)

Contudo, como os bovinos têm comportamentos individuais consideravelmente diferentes entre si, a classificação mais aceite é feita de acordo com a função ovárica, sendo então classificada em duas fases: Fase Folicular (contempla as fases Pró-estro e Estro) e a Fase Luteínica (Metaestro e Diestro) (Ball & Peters, 2004a).

1.2. Regulação endócrina do ciclo éstrico

O ciclo éstrico é regulado por diversas hormonas produzidas pelo hipotálamo – GnRH; pela adeno-hipófise – FSH e LH; pelo útero – PGF_{2α}; e pelos ovários – Progesterona (P₄) e estradiol (E₂) (Forde *et al.*, 2011). Durante todo o ciclo ocorrem diversas variações destas hormonas na corrente sanguínea. Estas variações são responsáveis pelas alterações morfológicas e funcionais que ocorrem nos ovários (folículos e corpo lúteo), e também pelas que ocorrem em toda a genitália (oviductos, útero, cérvix, vagina). A regulação hormonal é feita através de um mecanismo de “feedback” quando essas hormonas excedem os seus valores limites na corrente sanguínea (Rathbone *et al.*, 2001).

Sendo assim, o ciclo éstrico inicia-se com a produção, pelo hipotálamo, de uma onda de hormonas libertadoras de gonadotrofinas (GnRH) que origina a libertação de FSH e LH por parte da hipófise anterior, dando-se início ao desenvolvimento e crescimento folicular (Ball & Peters, 2004a). O desenvolvimento folicular nos bovinos ocorre num padrão de onda, onde cada onda é originada por um pico de FSH. Depois de os folículos serem recrutados e emergirem, entram numa fase de crescimento comum e os níveis de FSH começam a diminuir, chegando a atingir níveis mínimos na altura da diferenciação folicular, que será

abordada mais à frente. Essa diminuição de FSH foi reconhecida como sendo fundamental no processo de selecção do folículo dominante (Wiltbank, Lopez & Sartori, 2005).

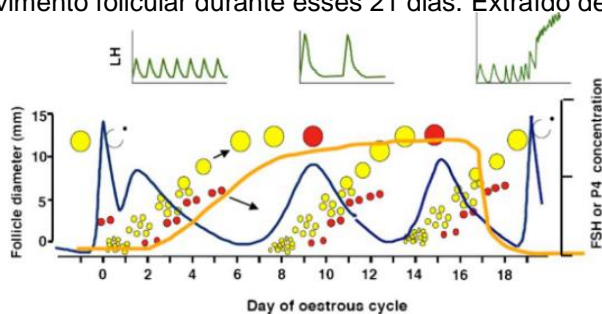
Relativamente à hormona LH, esta tem um padrão de produção por picos. A frequência e amplitude com que essas ondas de LH ocorrem, variam durante o ciclo éstrico de acordo com o tipo de função e acção a ter nos ovários (Rathbone *et al.*, 2001). São directamente influenciáveis pelas concentrações de progesterona e estradiol. Por exemplo, concentrações elevadas de progesterona produzida por um corpo lúteo funcional durante o diestro ou durante a gravidez, fazem diminuir o nível de LH. Quando ocorre a luteólise, os níveis de progesterona são basais e temos concentrações máximas de estradiol produzido por um folículo dominante (Adams, Jaiswal, Singh & Malhi, 2008). Assim sendo, acredita-se que esse aumento na concentração de estradiol seja responsável pelos picos pré-ovulatórios de FSH e LH (Kesner & Convey, 1982). Deste modo, durante o início da fase lútea surgem picos de LH com pequena amplitude, mas de elevada frequência (20-30 picos/24h). Durante a fase lútea propriamente dita, em que há as maiores concentrações de progesterona, temos picos com baixa frequência, mas uma com elevada amplitude (6-8 picos/24h). Tanto o primeiro padrão de picos de LH como o segundo, são insuficientes para produzirem níveis de LH capazes de proporcionar a maturação final e consequente ovulação do folículo dominante (Rahe *et al.*, 1980, citados por Forde, Beltman, Lonergan, Diskin, Roche & Crowe, 2011).

Sendo assim, para que se voltem a verificar níveis de LH suficientes para que se dê o desenvolvimento e a maturação de um folículo pré-ovulatório, é necessário haver níveis baixos de progesterona, para que haja um aumento na produção de estradiol, um aumento da frequência dos picos de LH e, consequentemente, um folículo dominante em crescimento. Mais tarde, surgirá um pico elevado de LH denominado de pré-ovulatório (Adams, Jaiswal, Singh & Malhi, 2008). A produção de estradiol realiza-se pelo processo da esteroidogénese, através de um mecanismo chamado de “two-cell/two-gonadotrophin theory”, i.e., a teoria das duas células/duas gonadotrofinas (Ginther, Wiltbank, Fricke, Gibbons & Kot, 1996).

Porém, é de alguma importância referir a constituição de um folículo ovulatório, para que a compreensão do processo de esteroidogénese seja mais fácil. Um folículo ovulatório é constituído, do exterior para o interior, por uma camada celular vascularizada, denominada de teca interna, que se encontra exteriormente a uma membrana basal, por uma camada avascular de células da granulosa que se encontra interiormente à membrana basal, e um antro preenchido por um líquido viscoso onde se encontram hormonas e outras substâncias. O oócito encontra-se no antro circundado por uma camada de células que se chamam corona radiata, que comunicam com a camada de células da granulosa por um pedúnculo celular denominado de *cumulus oophorus* (Rathbone *et al.*, 2001).

A esteroidogénese ocorre de acordo com as acções das gonadotrofinas LH e FSH sobre os receptores das células da teca interna e da granulosa, respectivamente. Quando a LH se une aos receptores das células da teca, dá-se a formação de androgénios (Stevenson, 2007). Estes são sintetizados por acção das enzimas 17 α -hydroxylase e C17,20-lyase (Ginther *et al.*, 1996). Os androgénios, por sua vez, vão atravessar a membrana basal e entrar nas células da granulosa. Quando a FSH se une aos receptores das células da granulosa, estimula a actividade da enzima aromatase que, por sua vez, converte os androgénios em estrogénios, nomeadamente estradiol (Stevenson, 2007). O folículo pré-ovulatório produz grandes quantidades de estradiol para a corrente sanguínea. O eixo hipotálamo-hipofisário, quando o estradiol atinge a sua quantidade máxima na corrente sanguínea, actua fazendo libertar ondas de gonadoliberinas que ao actuarem na adeno-hipófise vão originar ondas tanto de FSH como de LH, sendo também, subsequentemente, responsável pelo aparecimento dos comportamentos de cio da fêmea. Após essa grande onda de estradiol, que leva aos picos de FSH e LH pré-ovulatórios e, conseqüentemente, à ovulação, as concentrações destas hormonas começam a diminuir, visto que se inicia a luteinização das células da teca interna e da granulosa, células essas que eram as responsáveis pela produção do estradiol (Rathbone *et al.*, 2001). Assim sendo, o pico de LH vai dar início ao processo de ovulação ao activar uma resposta inflamatória, fazendo com que a parede do folículo fique mais fina e com que se dê a ruptura (Ball & Peters, 2004a). Este processo é regulado por um grupo de mediadores intrafoliculares que actuam na membrana basal e nos capilares da teca fazendo com que se crie uma zona de fragilidade – o estigma (Stevenson, 2007).

Fig. 2 – Nesta figura estão ilustrados os padrões de secreção das hormonas FSH, LH e P₄ durante um ciclo éstrico de 21 dias de duração nos Bovinos (*Bos taurus*). Está também esquematizado o padrão de desenvolvimento folicular durante esses 21 dias. Extraído de Forde *et al.* (2011).



Logo após a libertação do oócito do folículo ovulatório, entramos na fase lútea do ciclo éstrico. Esta inicia-se aproximadamente no dia 4-5 do ciclo éstrico e é caracterizada pela presença de um corpo lúteo funcional que produz quantidades significativas de progesterona (Stevenson, 2007). O corpo lúteo é um órgão de curta duração, essencial para a gestação nos mamíferos (Niswender, Juengel, McGuire, Belfiore & Wiltbank, 1994). A progesterona (P₄) tem como principal papel a preparação do útero para receber o embrião e a manutenção da gestação, tendo também um papel muito importante na inibição da produção

de GnRH e, conseqüentemente, de LH, prevenindo assim, a maturação final de folículos pré-ovulatórios (Ball & Peters, 2004a). A hormona LH, o maior agente luteotrópico nos bovinos, é responsável por estimular a luteinização das células da teca interna e da granulosa do folículo pré-ovulatório (Alila & Hansel, 1984). Deste modo, a maior parte do parênquima do CL é formado por células esteroidogénicas que passam a ter função lútea (Niswender *et al.*, 1994), sendo o restante constituído por pericitos, fibroblastos, músculo liso e células endoteliais. O CL é o órgão com maior suprimento sanguíneo por unidade de tecido de todo o organismo (Reynolds & Redmer, 1999 citados por Noakes, 2001a). Existem dois tipos de células esteroidogénicas, cuja diferença entre elas baseia-se no seu tamanho e, por isso, são chamadas de células lúteas Grandes e Pequenas (Niswender *et al.*, 1994). Ambos os tipos produzem progesterona, no entanto, as Pequenas possuem quase todos os receptores para a LH e têm, *in vitro*, seis vezes mais capacidade de resposta à LH relativamente à produção de P_4 que as células Grandes (Stevenson, 2007). Contudo, as células lúteas Grandes produzem cerca de 80%, da progesterona enquanto os restantes 20% ficam a cargo das células Pequenas (Niswender *et al.*, 1994). As células lúteas Grandes, embora não tenham receptores para LH, têm uma grande quantidade de receptores para a $PGF_{2\alpha}$ e PGE_2 , e, para além de produzirem P_4 , têm também a capacidade de produzir neurofina e oxitocina semelhante à produzida pelo hipotálamo e armazenada na hipófise posterior (Stevenson, 2007).

Se aproximadamente no dia 16 do ciclo éstrico não houver o reconhecimento materno da gestação (através da produção de interferão TAU, em quantidades suficientes) tem início a luteólise, sendo a principal hormona responsável por este processo, a $PGF_{2\alpha}$, produzida pelo útero (Lamothe, Bousquet & Guay, 1977). A $PGF_{2\alpha}$ é o principal agente luteolítico, é um derivado insaturado dos ácidos linolénico e araquidónico (Noakes, 2001a) e, a sua produção tem início quando há libertação de oxitocina por parte do próprio CL. Quando há o aumento de oxitocina começa também a haver um aumento de receptores para esta nas células endometriais e, conseqüentemente, dá-se início à conversão do ácido araquidónico em $PGF_{2\alpha}$ (Ball & Peters, 2004a). Em seguida, a $PGF_{2\alpha}$ produzida pelas células do endométrio chega ao ovário através de um mecanismo de contra-corrente entre a veia uterina média e a artéria ovárica, e dada a proximidade anatómica que elas apresentam, há a passagem de $PGF_{2\alpha}$ de uma para a outra e, posteriormente, para os ovários, mais precisamente para o CL (Noakes, 2001a). A produção de $PGF_{2\alpha}$ decorre em picos por 36 horas e, normalmente, cada pico demora cerca de 6 horas. Pensa-se que o estradiol tem um papel fundamental na luteólise, pois é devido à sua elevação que se dá a síntese dos receptores de oxitocina nas células endometriais e, conseqüentemente, a produção de $PGF_{2\alpha}$ (Stevenson, 2007). Hoje em dia, ainda há alguma controvérsia relativamente ao processo como a $PGF_{2\alpha}$ desencadeia a luteólise. Alguns autores defendem que a $PGF_{2\alpha}$ tem propriedades vasoconstritoras e assim, actua directamente no suprimento sanguíneo do CL. Sendo este altamente

vascularizado, entra em regressão. Contudo, fica a dúvida se a isquemia no CL é uma consequência da luteólise ou se é responsável por esta (Niswender *et al.*, 1994). Outros defendem que a $\text{PGF}_{2\alpha}$ inibe a activação do sistema adenil-ciclase pela LH inibindo assim, a produção de progesterona pelas células lúteas (Ball & Peters, 2004a). De qualquer forma, é sabido que a $\text{PGF}_{2\alpha}$ é responsável pelo processo de luteólise e como tal, há a diminuição rápida da concentração de progesterona em circulação, o que leva a que haja um aumento na produção LH, logo um aumento também, de estradiol e em seguida, de gonadotrofinas, dando-se assim o início de mais uma fase folicular (Forde *et al.*, 2011).

1.3. Dinâmica folicular

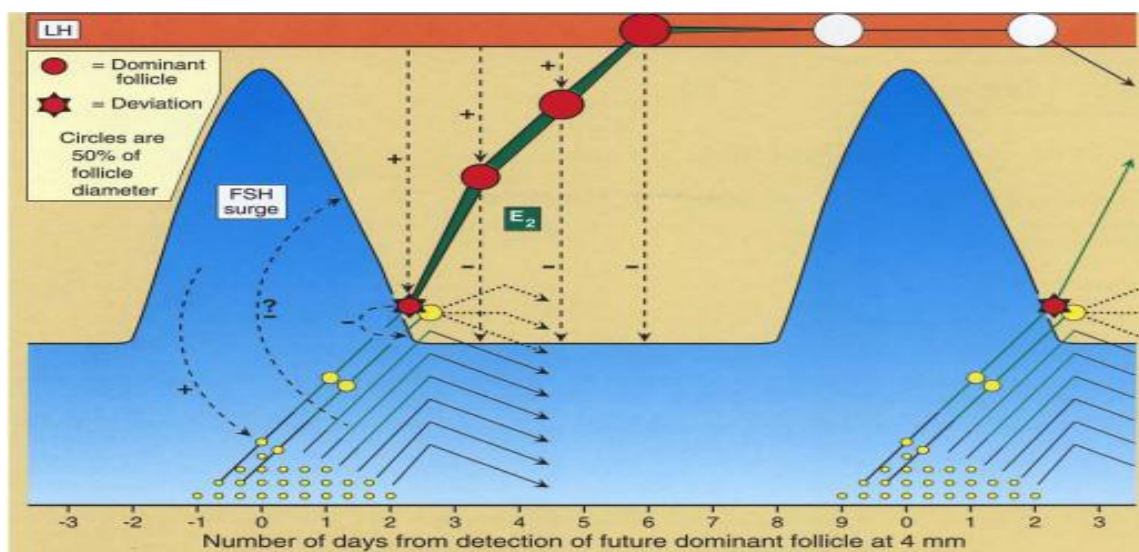
Após um passado não muito longínquo em que muitos autores exprimiram as suas ideias relativamente ao aparecimento, crescimento e maturação dos folículos ovários, ficou estabelecido que o desenvolvimento folicular nos bovinos ocorria num padrão de ondas (Adams, Jaiswal, Singh & Malhi, 2008), mais precisamente em duas, três ou em alguns casos, mesmo quatro ondas foliculares por ciclo éstrico, em vacas adultas (Stevenson, 2007). Um estudo de Pierson & Ginther (1984), citados por Ginther (2000), demonstrou que, em média, ocorrem apenas duas ondas de desenvolvimento folicular. No entanto, está provado que nos bovinos, 95% das fêmeas têm entre duas a três ondas de desenvolvimento folicular (Adams, Jaiswal, Singh & Malhi, 2008). Basicamente, cada onda consiste num grupo de folículos que se desenvolvem em conjunto e que a determinada altura, um é seleccionado e os outros entram em regressão. O que se desenvolver mais tem hipótese de vir a ser um folículo dominante (Stevenson, 2007). Assim sendo, o desenvolvimento folicular decorre principalmente em três fases: o recrutamento - há um grupo de folículos que entra num crescimento rápido devido à acção de gonadotrofinas; selecção – é o processo onde um ou mais do que um dos folículos recrutados é seleccionado para se desenvolver ainda mais; e dominância – que é um mecanismo pelo qual, geralmente, apenas um folículo se destaca dos restantes e com um desenvolvimento muito rápido pode tornar-se num folículo pré-ovulatório (Noakes, 2001a).

Logo após o pico ovulatório de FSH, normalmente regista-se um segundo pico mais pequeno cerca de 18-24 horas após o primeiro (Adams, Matteri, Kastelic, Ko & Ginther, 1992), responsável por estimular o crescimento de um grupo pequeno de folículos antrícos que crescem, aproximadamente, até 4-5 mm, por um período de um ou dois dias (Mihm, Crowe, Knight & Austin, 2002). Com o declínio dos teores de FSH nos 2-3 dias seguintes, cada vez menos folículos continuam a crescer e, eventualmente, acaba por só ficar um folículo, normalmente chamado de folículo dominante (FD), enquanto os restantes estagnam no crescimento e acabam por entrar em atresia, via apoptose (Austin *et al.*, 2001).

O declínio da FSH parece ser crucial para que se dê o processo de diferenciação do FD (Mihm, Crowe, Knight & Austin, 2002). Alguns estudos demonstraram que um aumento na

quantidade de estradiol produzido pelo folículo de maiores dimensões, no início da fase de dominância, contribuía em grande escala para o declínio da FSH (Ginther, Bergfelt, Beg & Kot, 2001), assim como a inibina, que é um componente proteico do líquido folicular, tem um efeito inibitório na produção de FSH e no crescimento folicular, tendo também, um importante papel no declínio da quantidade de estradiol (Ginther, Wiltbank, Fricke, Gibbons & Kot, 1996). O estradiol é produzido pelas células da granulosa como resultado da aromatização dos androgénios que são produzidos nas células da teca. Assim, o estradiol produzido pelo FD em desenvolvimento tem grande importância no mecanismo de regulação por “feedback” negativo da produção de FSH. Os FD possuem maiores quantidades de estradiol no fluido folicular que os folículos subordinados. As importantes alterações autócrinas e/ou parácrinas que ocorrem no FD conferem-lhe funcionalidade com níveis basais de FSH e, conseqüentemente, ocorre a síntese de receptores de LH nas células da granulosa e uma contínua produção de estradiol (Evans & Canty, 2004). Os receptores para a FSH estão presentes apenas nas células da granulosa, enquanto os receptores para a LH estão presentes tanto nas células da granulosa como nas células da teca interna de todos os folículos antrícos. O FD adquire mais receptores para a LH nas células da granulosa que os outros folículos subordinados e, devido a isso, consegue alterar a sua dependência de gonadotrofinas, da FSH, para a dependência exclusiva da LH, facto que lhe permite continuar o seu crescimento, enquanto os subordinados entram em regressão (Adams, Jaiswal, Singh & Malhi, 2008). O papel da LH no processo de diferenciação ainda não está bem definido, mas está provado que, no momento da diferenciação, há um aumento da concentração de LH na circulação sanguínea nos bovinos. Em estudos experimentais, onde se reduziu a quantidade de LH na altura da diferenciação, observou-se que não só era afectado o processo de diferenciação, como também se verificava uma redução no diâmetro do folículo maior, na concentração intra-folicular de estradiol e também, na quantidade de factor de crescimento insulínico (IGF-1). Estes resultados permitem-nos concluir que é necessária a LH, tanto para o processo de diferenciação, como para o crescimento máximo do FD (Ginther, Bergfelt, Beg & Kot, 2001). Actualmente é sabido que no ovário dos bovinos estão presentes a IGF-1 e a IGF-2, assim como receptores para estas e ainda as proteínas transportadoras das IGF (IGFBP) (Evans & Canty, 2004). A IGF-1 é reconhecida por estimular o crescimento folicular e, estudos *in vitro*, demonstraram o seu papel fundamental na estimulação dos processos mitóticos nas células da granulosa e teca, assim como no aumento da produção de estradiol, progesterona e androgénios (Ginther, Bergfelt, Beg & Kot, 2001). Normalmente, só o folículo de maiores dimensões tem maiores quantidades de receptores para a LH e para as proteases da proteína de ligação do IGF-1. Assim, devido à degradação destas proteínas de ligação, é possível manter valores elevados de bioactividade da IGF-1 (Roche, 2006), permitindo assim um maior e mais rápido crescimento do folículo de maiores dimensões.

Fig. 3 – Na imagem está ilustrado o mecanismo de recrutamento, de selecção e de dominância do folículo ovulatório. Extraído de Ginther, Wiltbank, Fricke, Gibbons & Kot (1996).



2. Período pós-parto na vaca

O período pós-parto na vaca é o espaço de tempo compreendido entre o parto e a involução uterina completa, que ocorre, normalmente, 40 dias depois do parto (Sheldon, 2004). No entanto, pode variar de acordo com as diferentes raças (Senger, 2005). É a altura em que o trato reprodutivo da fêmea retorna ao seu estado não gravídico, para que assim, possa voltar a ficar novamente gestante. Para que a involução uterina decorra da melhor forma possível é necessário que quatro etapas sejam concluídas com sucesso (Noakes, 2001b; Sheldon, 2004; Senger, 2005):

- Contracção do miométrio e expulsão da lóquia e outros detritos: nesta altura, temos um útero a reduzir o seu tamanho e a tentar eliminar todos os líquidos e restantes detritos do endométrio que aí ainda existam. Esta fase é normalmente designada de involução uterina;
- Reparação do endométrio: a estrutura do endométrio e as camadas mais profundas da parede uterina estão a ser restauradas (necrose e descamação das carúnculas e a regeneração endometrial) (Gustafsson, Kornmatitsuk, Königsson & Kindahl, 2004; Sheldon, 2004);
- Recomeço da actividade ovárica: há um reinício das actividades ovárica e cíclica;
- Eliminação das bactérias contaminantes do útero: nesta fase ocorre a eliminação de bactérias contaminantes que possam ter entrado no útero aquando do parto.

É importante referir que, em animais poliéstricos é de extrema importância o período pós-parto decorrer o mais rapidamente possível, bem como da melhor forma possível, pois o período que vai desde o parto e a nova concepção é muito importante, economicamente, para uma exploração. Quanto mais prolongado for o período pós-parto, maior será o atraso na próxima gestação e menos eficiente o processo de produção (Senger, 2005).

2.1. Involução uterina

Logo após o parto, dá-se imediatamente a contracção, tanto do útero como da cérvix e, simultaneamente, inicia-se a involução uterina. Este processo envolve algumas etapas cruciais, que ocorrem ao mesmo tempo. As contracções fortes e intensas do miométrio têm como objectivos comprimir a vascularização uterina e diminuir a possibilidade de ocorrerem hemorragias, diminuir o tamanho do útero e ajudar a expulsar fluidos e detritos do útero (Senger, 2005). Esses fluidos são normalmente designados de lóquia. A lóquia caracteriza-se por ter uma cor amarela acastanhada ou vermelha acastanhada e a sua quantidade varia de indivíduo para indivíduo. Em vacas múltiparas, a lóquia pode ser de até 2000 mL, enquanto nas primíparas, normalmente não ultrapassa os 500 mL, podendo mesmo haver animais que não a apresentam (Noakes, 2001b). É constituída por restos de fluidos fetais, por sangue proveniente da ruptura dos vasos umbilicais, por restos de fragmentos das membranas fetais, mas principalmente por porções da superfície das carúnculas em necrose (Noakes, 2001b; Sheldon, 2004). O maior volume de corrimento ocorre nos primeiros 2-3 dias pós-parto. A partir do dia 8, o corrimento começa a ser ténue e, entre os dias 14-18 PP, passa a ser praticamente inexistente (Noakes, 2001b). Porém, entre os dias 5-10 verifica-se um aumento da quantidade de sangue e detritos de tecido endometrial na lóquia. Isto deve-se ao facto de após a separação dos cotilédones fetais das carúnculas uterinas (entre as 8-12h PP), ocorrer uma vasoconstricção na base destas últimas e por consequência, a necrose dos tecidos carunculares (Senger, 2005). A necrose¹ conduz à degradação da massa caruncular e à sua incorporação na lóquia (Senger, 2005). Esta adquire uma cor avermelhada por haver uma extensa ruptura de pequenos vasos neste processo, principalmente arteríolas, que se encontram na superfície das carúnculas. É importante referir que a lóquia não patológica não tem mau odor (Noakes, 2001b).

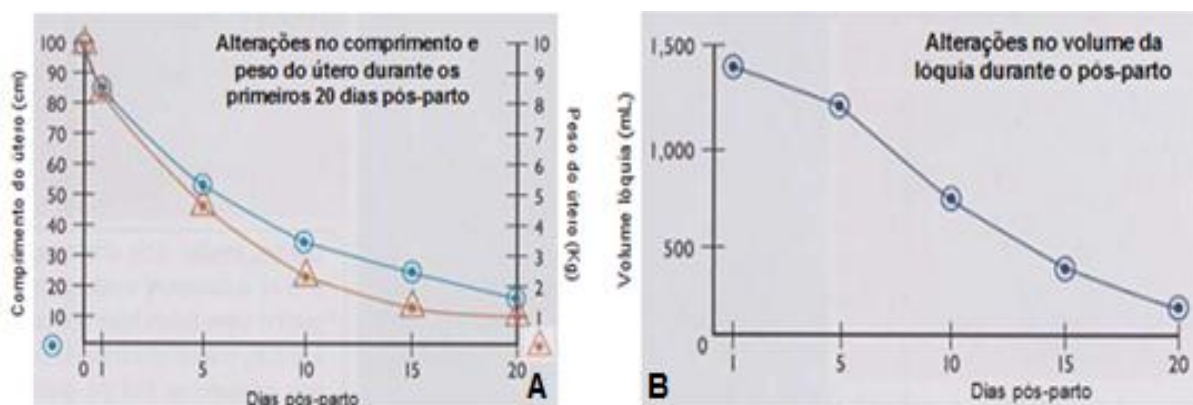
Em todo este processo de contracção, limpeza e eliminação da lóquia do útero, a quantidade de tecido que é eliminado corresponde a uma diferença de pesos do útero de 9 Kg aquando do parto, para 1 Kg aos 30 dias PP (Sheldon, 2004).

Para além da extensa regressão e regeneração sofrida pelo útero, a cérvix também vai ser alvo de uma remodelação semelhante. Logo após o parto, a cérvix contrai-se e, entre as 10-12h após o parto, que tenha decorrido normalmente, é quase impossível introduzir a mão no útero por via vaginal e, aproximadamente 96h depois, dificilmente se consegue introduzir mais que dois dedos no canal cervical (Noakes, 2001b). Contudo, entre os dias 7-10 PP ocorre uma reabertura do canal da cérvix que mantém posteriormente uma estrutura de pregas. Este processo é indicativo de que a cérvix permite a saída da lóquia numa fase mais avançada da involução uterina, protegendo assim o útero de contaminação, quer interna,

¹Morte celular patológica e irreversível que pode ocorrer por diversos agentes. Normalmente, a célula aumenta de volume, assim como os seus organitos, e acaba por rupturar, expulsando o conteúdo intracelular para o meio extracelular (Junqueira & Carneiro, 2004).

quer externa. A reorganização da estrutura cervical tem início na extremidade cranial e continua caudalmente (Wehrend, Failing & Bostedt, 2003). A diminuição do diâmetro uterino segue o mesmo modelo de diminuição do diâmetro da cérvix. Contudo, pensa-se que a cérvix involui mais lentamente que o útero. Todavia, o diâmetro da cérvix é melhor indicador de problemas reprodutivos, aquando do processo de involução, que o tamanho do útero, porque há menor variação no tamanho e na acessibilidade da cérvix (LeBlanc *et al.*, 2002). LeBlanc *et al.* (2002) sugerem que o tempo óptimo para avaliar a involução da cérvix é às 3 semanas PP e a largura máxima deverá ser nessa altura de 6 e 7,5 cm. Os autores Gier & Marion (1968), citados por Noakes (2001b), constataram que o diâmetro do corno uterino gravídico passava a metade nos primeiros 5 dias PP e que o seu comprimento passava a metade aos 15 dias PP. No entanto, também verificaram que a velocidade de involução uterina era bastante elevada nos primeiros 10 dias PP e que, depois disso, abrandava o ritmo de involução.

Fig. 4 – a imagem da esquerda (A) corresponde às variações sofridas pelo útero quanto ao comprimento e peso, nos primeiros 20 dias PP; A imagem da direita (B) representa a alteração no volume da lóquia no mesmo período de tempo. Adaptado de Senger (2005).



Para além das alterações no peso e nas dimensões do útero, é possível monitorizar a involução uterina por sucessivas estimativas do tamanho do útero através da técnica de palpação rectal ou mesmo por ultrassonografia transrectal. A redução do diâmetro uterino é quase imperceptível por palpação rectal até às 4 semanas PP, porém, esse tipo de alterações estão concluídas às 6 semanas PP. Assim sendo, por volta das 2 semanas PP, normalmente todo o tracto genital da vaca é palpável pelo recto, em animais que estão a ter uma involução considerada normal. No entanto, ainda se consegue perceber qual foi o corno gravídico, pois este revela-se mais extenso e comprido que o corno não gravídico (Okano & Tomizuka, 1987; Risco *et al.*, 1994; Tian & Noakes, 1991, citados por Sheldon, 2004).

A involução uterina implica uma intensa remodelação tecidular. Deste modo, a quantificação de indicadores de “turnover” de tecidos, como por exemplo, hidroxiprolina e metabolitos da $\text{PGF}_{2\alpha}$ (15-keto-13, 14-dihydro-Prostaglandina $\text{F}_{2\alpha}$, PGFM), que são marcadores naturais da

involução uterina, poderá ser útil nessa análise (Lindell *et al.*, 1982; Kaidi *et al.*, 1991, citados por Sheldon, 2004). Para além dos PGFM, existem ainda as proteínas produzidas pelo fígado em resposta aos danos tecidulares e à inflamação que decorre da involução, que também podem servir de marcadores (Baumann & Gaudie, 1994, citados por Sheldon, 2004). A mensuração dos PGFM e das proteínas plasmáticas tem sido utilizada para avaliar o processo de involução uterina e, tem-se registado um aumento na concentração desses marcadores entre os dias 1-3 PP, seguido da sua diminuição até concentrações basais nas 2 semanas seguintes, havendo assim correspondência com o período de maior intensidade de involução uterina (Sheldon, 2004). Contudo, é necessário ter algum cuidado na interpretação destes dados porque em caso de haver uma infecção bacteriana, esses valores vão estar alterados, mais concretamente, aumentados (Sheldon *et al.*, 2001, citados por Sheldon, 2004).

Deste modo, considera-se que a involução uterina nas vacas está concluída quando os dois cornos uterinos tiverem, aproximadamente, as mesmas dimensões de uma situação pré-gravídica, quando retomarem a sua posição na cavidade pélvica e apresentarem a consistência e tonicidade consideradas normais (Carreira, 2007).

É importante referir que, em vacas que estão a amamentar, o tempo de involução uterina, em situações normais, é geralmente mais curto relativamente a vacas que estão em ordenha. Isto pode ser explicado pelo facto de nestas últimas, ser-lhes retirado o vitelo nas primeiras 24 horas, começando logo a ser ordenhadas 2-3 vezes por dia, enquanto numa fêmea lactante, os períodos de sucção por parte do vitelo e de estimulação da libertação de oxitocina, são muito mais frequentes. Isto faz aumentar a frequência e amplitude dos picos de oxitocina e com que haja uma maior actividade de contracção das fibras musculares, tanto longitudinais como circulares do miométrio, acelerando o processo de involução e expulsão da lóquia e anexos fetais (Senger, 2005; Sheldon, Lewis, LeBlanc & Gilbert, 2006; Carreira, 2007).

2.2. Reparação e renovação do endométrio

A regeneração do epitélio do endométrio tem início logo após o parto nas áreas que não ficaram muito danificadas. O processo de regeneração tem lugar, tanto na área intercaruncular como na área caruncular, e em ambos os locais o processo decorre ao mesmo tempo. Geralmente, o epitélio intercaruncular leva menos tempo a ser reparado do que o epitélio caruncular; normalmente, no 8º dia PP a re-epitelização desta área está terminada (Noakes, 2001b; Sheldon, 2004). O atraso no processo de re-epitelização da área caruncular está associado ao facto de haver uma grande quantidade de massa caruncular que necessita de sofrer o processo de necrose e descamação até que a superfície caruncular esteja pronta a ser re-epitelizada. Assim sendo, a reparação e renovação do

epitélio do endométrio está totalmente terminada por volta do dia 25 PP. Enquanto todo este processo está a decorrer, o tamanho das carúnculas vai diminuindo, até que, entre os 40-60 dias PP tenham aproximadamente 4-8mm de diâmetro e entre 4-6mm de altura (Noakes, 2001b).

2.3. Reinício da actividade ovárica

Logo após o parto observa-se um período de anestro, considerado fisiológico, a seguir ao qual há um recomeço da actividade cíclica, assim que se der por concluída a involução uterina (Hopkins, 1986).

No período anovulatório, ainda durante a gestação, ocorrem várias ondas de crescimento folicular, surgindo folículos, que podem ser detectados em ambos os ovários, com um máximo de 6 mm de diâmetro (Leslie, 1983; Noakes, 2001b). No entanto, não há selecção nem desenvolvimento de um FD pois, durante esse período, as elevadas concentrações de P_4 inibem o eixo hipotálamo-hipofisário e suprimem a produção de GnRH pelo hipotálamo, resultando num estímulo inadequado para a manutenção da secreção de LH e FSH (Nett, 1987 citado por Sheldon, 2004; Roche, 2006). Após o parto, quer as concentrações de P_4 , quer as de estradiol estão baixas, mais baixas que aquelas que normalmente são encontradas no ciclo éstrico normal. Contudo, a hipófise anterior tem alguma capacidade de produção de FSH, nomeadamente, através da libertação de GnRH por parte do hipotálamo, em concentrações mínimas, mas que no entanto, são suficientes para manter uma elevação gradual de FSH no plasma (Leslie, 1983; Noakes, 2001b). Assim sendo, 2-3 dias PP verifica-se um aumento de FSH que leva ao reinício das ondas de crescimento folicular (Ball & Peters, 2004b). Este aumento regular na concentração plasmática de FSH verifica-se até aos dias 6-10 PP, podendo então surgir o primeiro folículo com capacidade de se tornar ou não dominante. Isto mostra que a produção de FSH é independente de outros factores como a dieta, a amamentação ou ordenha e a duração do anestro PP (Sheldon, 2004). A duração deste último parece estar relacionada com a capacidade dos folículos em desenvolvimento desencadearem o pico pré-ovulatório de LH ou com uma secreção pulsátil inadequada ou insuficiente de LH (Carreira, 2007). A IGF-1 também está directamente relacionada com a duração do período de anestro PP, pela sua íntima ligação e importância no início da foliculogénese, nomeadamente na esteroidogénese e ovulação, através da estimulação da actividade da enzima aromatase das células da granulosa na produção de estradiol (Noakes, 2001b).

O FD que se forma por volta do 10º dia PP tem 3 destinos possíveis (Sheldon, 2004; Roche, 2006):

- Ovulação e formação de um CL (30-80% das vacas);
- Atrésia com subsequente emergência de um segundo FD (15-60% das vacas);
- Continua a crescer podendo tornar-se num quisto ovárico (1-5% das vacas).

A ovulação seguida da formação de um CL, é normalmente a progressão natural (Peter, Vos & Ambrose, 2009). A primeira ovulação não é, geralmente, acompanhada de comportamentos de cio, pelo facto de ser necessário a presença de progesterona para se registar este tipo de resposta. A fase lútea poderá ser mais curta devido à produção prematura de PGF_{2α}, por parte do endométrio (Savio, Boland, Hynes & Roche, 1990). Depois da primeira ovulação PP, a fase lútea pode ter a duração normal de 18-24 dias ou, relativamente mais curta, com 14 dias. Isto acontece em cerca de 25% das vezes, em vacas de aptidão leiteira (Adams, 1999; citado por Noakes, 2001a). Estas fases lúteas mais curtas são cada vez mais frequentes devido a um insuficiente desenvolvimento dos folículos pré-ovulatórios. São mais prevalentes em animais que tiveram retornos à actividade cíclica mais cedo, ou seja, em animais que tiveram o retorno da ciclicidade entre os 0-5 dias PP a percentagem de fases lúteas mais curtas é de 100%; 60%, entre 10-15 dias PP e 10%, entre 25-30 dias PP (Terqui, Chupin & Gauthier, 1982, citados por Noakes, 2001b).

2.3.1. Factores que influenciam o retorno da actividade cíclica

- Amamentação vs Ordenha – muitos estudos demonstraram que o recomeço da actividade cíclica, da ovulação e comportamentos de cio, sofrem atrasos nas vacas tanto de aptidão cárnica, como leiteira, que estão a amamentar as suas crias, relativamente às que estão a ser ordenhadas (Ball & Peters, 2004b). Carreira (2007) defende que a situação anovulatória PP é induzida por um complexo conjunto de interações sociais e comportamentos espaciais que se estabelecem entre a mãe e a cria. Assim sendo, não será a intensidade da mamada, nem a duração desta, que irão interferir directamente no período anovulatório, mas sim, a frequência com que ocorre contacto entre a mãe e a cria. Por outro lado, o recomeço do padrão pulsátil de produção de LH também sofre com o factor amamentação visto que, de acordo com Ball & Peters (2004b), em vacas que estão em ordenha, o recomeço da produção de LH dá-se por volta do 10º dia PP, enquanto em vacas a amamentar este retorno não se verifica antes do dia 50 PP. Isto está de acordo com a ideia de que em vacas lactantes, o retorno à actividade cíclica normal ocorre mais tardiamente;
- Produção leiteira – a questão da produção leiteira como factor que influencia o retorno à ciclicidade no PP é bastante controversa (Noakes, 2001b; Ball & Peters, 2004b). No entanto, vários autores defendem que há uma relação antagónica entre altas produções leiteiras e a “performance” reprodutiva. A selecção genética para a produção de leite levou a um aumento da concentração sanguínea de prolactina e somatotropina e a uma diminuição na concentração de insulina, o que pode ter consequências menos favoráveis no desenvolvimento folicular (Nebel & McGilliard, 1993). Contudo, continua a ser um assunto de debate, dado que alguns autores defendem que é difícil isolar o factor elevada produção leiteira do estado nutricional do animal (Ball & Peters, 2004b);

- Estação do ano – em climas temperados, as condições climáticas influenciam as taxas de concepção e verificam-se intervalos entre o parto e o primeiro cio mais longos, principalmente no Inverno e no início da Primavera (Thibault *et al.*, 1966, citados por Ball & Peters, 2004b). Peters & Riley (1982), citados por Noakes (2001b), demonstraram que fêmeas paridas entre Fevereiro e Abril estiveram em anestro consideravelmente mais tempo que as paridas entre Agosto e Dezembro. Várias espécies selvagens da família *Bovidae* são sazonais no que diz respeito à reprodução, ou seja, alterações no fotoperíodo diário têm interferência no início e no final da actividade ovárica (Thibault *et al.*, 1966, citados por Ball & Peters, 2004b). Pensa-se que vestígios de sensibilidade ao fotoperíodo ainda estejam presentes nas raças bovinas domesticadas. Sendo assim, a melhor altura para estas fêmeas parirem, seria no final da Primavera início do Verão, quando há maior disponibilidade de alimento (Ball & Peters, 2004b) e os animais que parem no Verão têm um recomeço de actividade ovárica mais precoce que os que parem no Inverno (Carreira, 2007). No entanto, em climas tropicais, com temperaturas ambientais muito elevadas, verifica-se um atraso nos animais em reiniciar a actividade cíclica, comparativamente aos animais de zonas temperadas (Noakes, 2001b).
- Raça – é sabido que animais de diferentes raças diferem nos intervalos entre o parto e o recomeço da actividade cíclica, principalmente entre raças com aptidão leiteira e de carne, sendo que nos animais de carne normalmente esses números são superiores (Noakes, 2001b; Carreira, 2007).
- Nutrição e condição corporal – tanto em animais de aptidão leiteira como nos de aptidão cárnica, uma alimentação inadequada, durante o período seco e também no período pós-parto, tem grande influência no recomeço da actividade ovárica (Noakes, 2001b). A ingestão de energia parece ter um papel mais importante que a ingestão de proteína na função reprodutiva. Vários estudos demonstraram que dietas com baixas quantidades em energia nos períodos pré e pós-parto aumentavam o tempo de anestro PP e, em novilhas, verificou-se uma diminuição do crescimento folicular, baixa produção de P_4 e diminuição da taxa de concepção (Ball & Peters, 2004b). Dietas com excesso de proteína bruta, com valores entre os 16 e 19%, como por exemplo, de proteína altamente degradável no rúmen, levam a concentrações plasmáticas muito elevadas de ureia, que conduzem a valores significativamente mais baixos na taxa de concepção ao primeiro serviço (Canfield, Sniffen & Butler, 1990; Butler, 2000; Peter, Vos & Ambrose, 2009). Concentrações relativamente baixas de glucose em circulação, associadas a situações de carência nutritiva ou perdas de peso e condição corporal, levam a situações de hipoglicémia e, conseqüentemente, a casos de infertilidade em vacas em lactação. Contudo, devido aos inúmeros factores que podem influenciar os valores da glucose, sugeriu-se que o seu papel seria de carácter predisponente e não causal (Carreira, 2007). A avaliação da condição corporal dos animais tem sido muito utilizada e muito útil, para esse mesmo fim. Este procedimento, embora

possa ser um pouco subjectivo, é de fácil execução e não necessita de material especializado (Ball & Peters, 2004b). Situações onde ocorrem grandes perdas de condição corporal logo após o parto levam a casos de anestros PP prolongados (Santos, 2008). Embora a dieta energética possa ser a causa principal para baixas “performances” reprodutivas, deficiências em outros nutrientes, particularmente vitaminas e minerais, também têm demonstrado alguma importância. Assim sendo, ainda que os mecanismos nutricionais que levam a baixos índices reprodutivos estejam a ser elucidados, continua a haver muitos conflitos de ideias e de informação, relativamente à relação entre a nutrição e a reprodução (Ball & Peters, 2004b).

- **Balanço energético** – o balanço energético tem um importante papel na determinação do recomeço da actividade ovárica no PP (Canfield, Sniffen & Butler, 1990), e consiste no resultado da energia ingerida (“intake”) menos a energia que é usada (“output”) pelo animal para a sua manutenção e actividade produtiva, no caso, produção de leite. Num período nutricional pré-parto normal, as vacas raramente entram em balanço energético negativo (BEN) antes do parto. No entanto, após o parto, entre as 4 e as 6 semanas, os requisitos nutricionais aumentam consideravelmente devido à produção leiteira e a maior parte dos animais entram num estado de BEN (Santos, 2008; Peter, Vos & Ambrose, 2009). O recomeço da actividade ovárica está intimamente associada ao balanço energético do animal, contudo parece, também, estar associado a um aumento da concentração plasmática de IGF-1, que por sua vez, está directamente associado ao estado nutricional do animal e à concentração sanguínea de insulina (Santos, 2008). Quando a vaca fica sujeita a um BEN verifica-se uma redução nas suas concentrações de glucose, insulina e IGF-1 (Santos, 2008). Valores baixos de insulina, para além de poderem interferir com a função hipotalâmica, também o fazem ao nível do ovário, condicionando o crescimento folicular. A insulina tem um efeito modulador na produção de LH e na capacidade esteroidogénica do ovário. Quando os valores de insulina são baixos, a capacidade de secreção de estradiol está comprometida e maior dificuldade haverá para se estabelecer um pico de LH que permita a ocorrência de uma ovulação (Carreira, 2007). Os níveis plasmáticos de IGF-1 estão directamente associados à condição corporal e estado nutricional do animal (Beam & Butler, 1999, citados por Butler, 2000). O prolongamento de uma situação de baixos valores de IGF-1 em circulação está associado a um aumento do período de anestro PP. Concentrações baixas de IGF-1 vão comprometer a proliferação e a capacidade esteroidogénica das células tecais e da granulosa. No ovário, valores baixos de IGF-1 vão prejudicar a produção, pelas células da teca interna, de precursores para os estrogénios, diminuindo os receptores para a LH, impedindo que aquelas tenham uma resposta positiva à estimulação estrogénica (Butler, 2000; Carreira, 2007). Uma situação de BEN acompanha-se não só de uma diminuição de IGF-1, mas também de uma diminuição das suas proteínas transportadoras (IGFBP’s) que regulam a semi-vida e biodisponibilidade da IGF-1 circulante.

Devido a este facto, as acções da IGF-1 na fertilidade estão ainda mais limitadas, bem como a capacidade de resposta dos folículos ováricos em crescimento, pelo que a produção de estradiol não atinge os valores necessários para desencadear um pico de LH (Carreira, 2007). Está documentado que a severidade e duração do BEN estão associadas a intervalos de parto-primeira ovulação mais prolongados. O BEN no início da lactação exerce um efeito negativo na qualidade dos oócitos ovulados aproximadamente 80-100 dias mais tarde e, reduz as taxas de concepção. Deste modo, minimizar a duração e extensão do BEN no início da lactação é uma opção muito importante para alcançar uma “performance” reprodutiva óptima (Patton *et al.*, 2006). Pelo facto de a quantidade de energia ingerida não acompanhar o aumento das necessidades em energia necessárias à produção de leite, as vacas têm necessidade de mobilizar reservas energéticas de uma tal forma que as alterações metabólicas e endócrinas que daí advêm têm grande responsabilidade nos problemas de fertilidade que se verificam nas vacas de alta produção de leite, dos nossos dias (Veerkamp *et al.*, 2003, citados por Pedernera, Garcia, Horagadoga, Barchia & Fulkerson, 2008);

- Parto e número de lactações – está demonstrado que há um atraso do reinício da actividade ovárica nas vacas primíparas relativamente às vacas pluríparas – 4ª lactação. No entanto, trata-se de matéria controversa pelo facto de ser difícil a separação das influências do estado nutricional, da produção leiteira e da perda de peso (Noakes, 2001b; Carreira, 2007);
- Doenças associadas ao PP – doenças uterinas como retenção placentária e infecções uterinas são importantes factores de risco para a ocorrência de perfis de P₄ anormais, ovulações atrasadas, ovários quísticos e fases lúteas prolongadas (Opsomer *et al.*, 2000; Royal *et al.*, 2000; citados por Sheldon *et al.*, 2008), sendo que os efeitos destas doenças na actividade ovárica ocorrem em múltiplos níveis, como por exemplo, no ovário, hipotálamo e adeno-hipófise. Devido à inflamação por infecção bacteriana do útero, os animais afectados apresentam normalmente, folículos ováricos pequenos e baixas concentrações plasmáticas de estradiol, assim como, uma alteração no padrão de produção da LH (Sheldon *et al.*, 2006; Sheldon *et al.*, 2008). Taxas de concepção reduzidas, também são consequência de endometrites subclínicas, ou ocorrem em fêmeas que padeceram de doença uterina infecciosa entretanto resolvida, mas que provocou um atraso na involução uterina completa (Sheldon *et al.*, 2008).

2.4. Eliminação das bactérias contaminantes do útero

O útero da vaca é estéril durante uma gestação considerada normal. Contudo, durante o parto e logo após este, quando a vulva está relaxada e a cérvix dilatada, microrganismos do ambiente, das fezes e mesmo da própria pele do animal contaminam o lúmen uterino (Sheldon, 2004). As barreiras anatómicas do útero contra a contaminação bacteriana,

nomeadamente a vulva, o vestíbulo, a vagina e a cérvix, estão em défice aquando do parto e mantêm-se assim por vários dias. É notório que nas vacas, a contaminação bacteriana do lúmen uterino é onipresente nas primeiras duas semanas pós-parto (Sheldon, Noakes, Rycroft, Pfeiffer & Dobson, 2002). No entanto, a flora bacteriana do útero sofre constantes flutuações durante as primeiras 7 semanas PP, principalmente devido à contaminação, depuração e recontaminação espontânea por bactérias. Um vasto leque de bactérias no lúmen uterino tem vindo a ser identificado por vários autores, tanto bactérias aeróbias como anaeróbias. As mais frequentemente identificadas são *Escherichia coli*, *Streptococci*, *Arcanobacterium pyogenes*, *Bacillus licheniformis*, *Prevotella spp* e *Fusobacterium necrophorum* (Noakes, 2001b; Elliot *et al.*, 1968; Griffin, 1973, citados por Sheldon, 2004).

Tabela 1. As três categorias de bactérias mais encontradas no útero, organizadas de acordo com a sua patogenicidade. Extraída de Sheldon, Noakes, Rycroft & Dobson (2004).

Bacterial category		
1	2	3
<i>Arcanobacterium pyogenes</i>	<i>Acinetobacter spp</i>	<i>Aerococcus viridans</i>
<i>Prevotella spp</i>	<i>Bacillus licheniformis</i>	<i>Clostridium butyricum</i>
<i>Escherichia coli</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Clostridium perfringens</i>
<i>Fusobacterium necrophorum</i>	<i>Haemophilus somnus</i>	<i>Corynebacterium spp</i>
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	<i>Mannheimia haemolytica</i>	<i>Enterobacter aerogenes</i>
	<i>Pasteurella multocida</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
	<i>Peptostreptococcus spp</i>	<i>Micrococcus spp</i>
	<i>Staphylococcus aureus</i> (coagulase +)	<i>Providencia rettgeri</i>
	<i>Streptococcus uberis</i>	<i>Providencia stuartii</i>
		<i>Proteus spp</i>
		<i>Propionibacterium granulosa</i>
		<i>Staphylococcus species</i> (coagulase –)
		α -haemolytic <i>Streptococci</i>
		<i>Streptococcus acidominimus</i>
		<i>Coliforms</i>
		<i>Aspergillus spp</i>
		<i>Fungus</i>
		<i>Bacterioides spp</i>
		<i>Aeromonas spp</i>

Legenda: na tabela 1 estão apresentados os 3 grupos de bactérias que representam 3 categorias: categoria 1 – bactérias que são reconhecidamente patogénicas para o útero e que estão associadas a lesões do endométrio; categoria 2 - bactérias potencialmente patogénicas que são frequentemente isoladas no lúmen uterino em casos de endometrite, mas que não estão associadas a lesões endometriais; categoria 3 – bactérias contaminantes oportunistas que são comumente isoladas no lúmen uterino, mas que não estão associadas a endometrites.

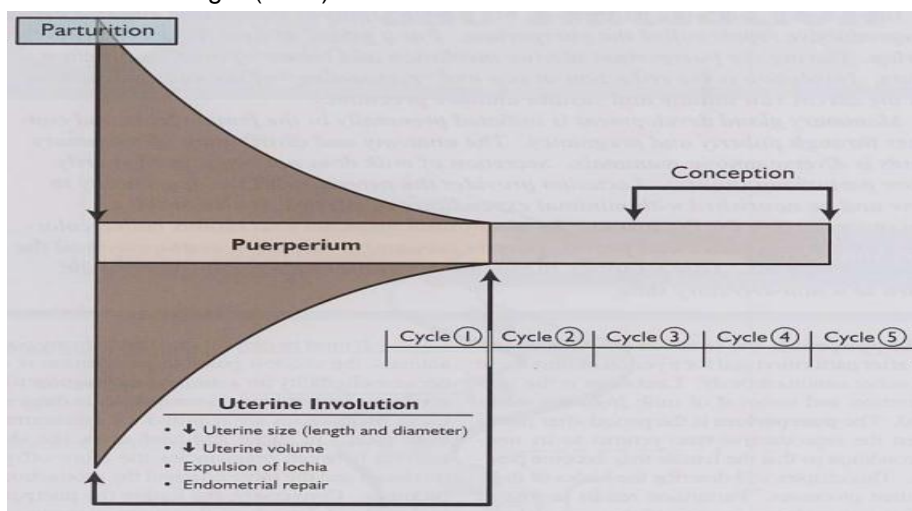
Em animais com involução uterina normal, nos primeiros 10 dias PP, os microrganismos bacterianos mais encontrados são estreptococos, estafilococos e bacilos. Relativamente a fêmeas com uma involução uterina já em atraso e com sinais de piómetra ou endometrite, predominam o *Arcanobacterium pyogenes*, a *Escherichia coli* e vários anaeróbios negativos, como o *Fusobacterium necrophorum*, assim como prevotelas (Carreira, 2007). Como nem todas as bactérias têm a mesma capacidade de infectar o lúmen uterino, a contaminação

qualitativa e quantitativa do útero está dependente do equilíbrio entre os factores de contaminação e as bactérias no ambiente e, também, dos mecanismos de defesa do animal com a sua resposta imunitária (Sheldon, 2004).

Na maior parte dos casos, as bactérias não colonizam o útero com o intuito de desenvolver uma metrite/endometrite, porém, o útero propicia um meio de crescimento perfeito devido à abundante existência de sangue e de detritos celulares e teciduais, provenientes da renovação do endométrio e das carúnculas. O principal mecanismo para a eliminação das bactérias que possam contaminar o útero é a fagocitose que decorre da intensa migração de leucócitos para o local. As persistentes contracções uterinas e a eliminação da lóquia e dos detritos carunculares, também têm um papel preponderante na expulsão física das bactérias. Um recomeço, sadio e precoce da actividade cíclica PP, também contribui significativamente para a eliminação bacteriana do útero, pois um útero sob acção de estrogénios é um útero mais resistente a infecções, embora em certos casos, tal possa ser desvantajoso porque se após um estro, não houver uma completa eliminação das bactérias, a fase lútea subsequente coloca o útero sob a acção da P_4 (Noakes, 2001b), podendo ocorrer então, proliferação bacteriana potencialmente patogénica (Olson *et al.*, 1984, citados por Noakes, 2001b). A involução uterina e a erradicação das bactérias também estão directamente associadas à concentração plasmática de $PGF_{2\alpha}$ sendo esta produzida em grandes quantidades pelo útero, no pós-parto imediato (Gustafsson, Kornmatitsuk, Königsson & Kindahl, 2004).

A infecção resultante da contaminação bacteriana não é sempre resolvida espontaneamente pelo organismo e, em aproximadamente 10-15% dos casos, a vaca desenvolve endometrites crónicas por várias semanas, causando sub-fertilidade (Bosberry & Dobson, 1989, citados por Sheldon *et al.*, 2004) e perdas económicas, visto que o custo associado a estas infecções está calculado como sendo o dobro dos custos associados às disfunções ováricas, por exemplo (Kossaibati & Esslemont, 1997, citados por Sheldon *et al.*, 2004).

Fig. 5 – Nesta imagem estão ilustrados os principais eventos que ocorrem no útero do parto até à concepção. Extraído de Senger (2005).



2.5. Papel da PGF_{2α} no PP

A involução uterina e a eliminação de bactérias no período PP está directamente associada às concentrações plasmáticas de PGF_{2α} (Gustafsson *et al.*, 2004; Carreira, 2007). A PGF_{2α} é produzida em grandes quantidades pelo endométrio durante o início do PP (Gustafsson *et al.*, 2004) e chega aos pulmões, onde vai ser metabolizada, através da circulação sanguínea (Mateus, Lopes da Costa, Diniz & Ziecik, 2003). Em estudos realizados por Lindell e Kindahl (1983), citados por Hendricks *et al.* (2006), demonstrou-se que aplicações sucessivas de PGF_{2α}, duas vezes por dia, no início do PP, diminuía o tempo de involução uterina. Estas conclusões sugerem que administrações precoces de PGF_{2α} exógena no PP, podem ter um efeito benéfico no útero de vacas que pariram normalmente ou mesmo, anormalmente (Young *et al.*, 1984, citados por Hendricks *et al.* (2006). Nos dois dias que precedem o parto pode observar-se uma queda brusca da concentração plasmática de P₄, que se acompanha de um aumento dos teores de PGF_{2α}. Para além disso, observou-se uma libertação massiva de PGF_{2α} durante o parto, num fenómeno desencadeado pela oxitocina, num endométrio sensibilizado pela P₄ e sob níveis elevados de estrogénios. A oxitocina potencializa a acção da PGF_{2α} sobre o útero e estimula a sua libertação por este (Carreira, 2007). A libertação uterina de PGF_{2α}, que é maior nas zonas carunculares (Carreira, 2007), decorre em grandes concentrações e mantém-se por um período relativamente longo, de aproximadamente 10-20 dias PP, depois do que, volta aos níveis basais (Edqvist *et al.*, 1978; Eley *et al.*, 1981, citados por Mateus, Lopes da Costa, Bernardo & Robalo Silva, 2002) e é a principal responsável pela involução do útero (Leslie, 1983; Carreira, 2007), pois pensa-se que promove a contracção deste (LeBlanc, 2008) e, está há muito comprovado que vacas com níveis circulantes de PGF_{2α} elevados durante mais tempo no PP, têm uma maior capacidade de regeneração do endométrio e um reinício da actividade ovária e uma involução uterina, mais precoces (Carreira, 2007; LeBlanc, 2008). É sabido que a PGF_{2α} é uma molécula pro-inflamatória pelo facto de estimular citocinas pro-inflamatórias que, por sua vez, estimulam a fagocitose e as funções linfocíticas (Kelly, King & Critchley, 2001). Assim sendo, de acordo com Slama, Vaillancourt & Goff (1993), a PGF_{2α} promove a involução uterina e reduz o risco de infecção local.

No entanto, um estudo realizado por Mateus, Costa, Diniz e Ziecik (2003), mostrou que concentrações mais elevadas de PGFM foram registadas em vacas que desenvolveram endometrites PP e que, quanto maior foi o grau de endometrite, mais elevadas eram as concentrações de PGFM e estavam presentes durante mais tempo. Kindahl *et al.* (1992) e Del Vecchio *et al.* (1992, 1994), citados por Mateus, Lopes da Costa, Diniz & Ziecik (2003), sugerem que o grau de endometrite influencia o padrão de libertação de PGF_{2α} e que a amplitude e a duração dessa libertação, estão positivamente correlacionadas com o tempo necessário para a involução uterina completa, em vacas com infecções puerperais. No entanto, quando temos animais com um puerpério normal, a amplitude e duração da

libertação de PGF_{2α} estão negativamente correlacionados com o tempo necessário para a completa involução uterina (Mateus, Lopes da Costa, Bernardo & Robalo Silva, 2002). Em situações de infecção uterina ou retenção placentária, há quem aconselhe a administração de uma PGF_{2α} exógena entre os 7-10 dias ou entre os 14 e 28 dias PP, de forma a favorecer a expulsão do conteúdo contaminante e a involução uterina (Nakao, Gamal, Osawa, Nakada, Moriyoshi & Kawata, 1997)

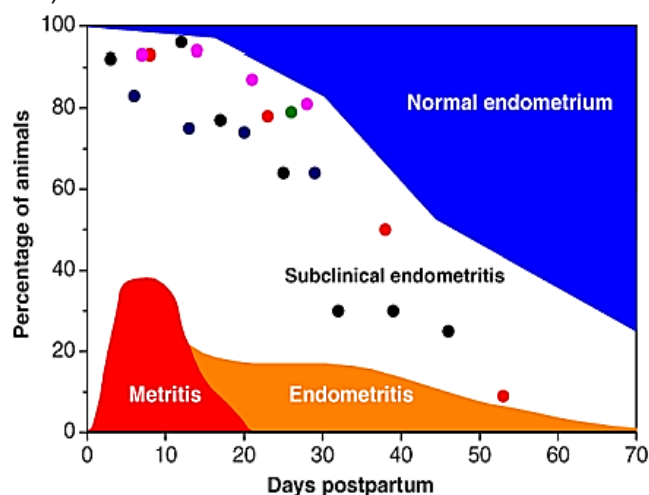
2.6. Doenças infecciosas mais comuns associadas ao PP

A altura do parto é, tanto para a mãe como para a descendência, um período de alto risco, em todas as espécies, não sendo os bovinos uma excepção. Os riscos de lesão física no processo de nascimento, bem como falhas no processo de libertação das membranas fetais, podem levar ao aparecimento de infecções microbianas na vaca (Sheldon, Williams, Miller, Nash & Herath, 2008). No intervalo de tempo que decorre entre as últimas duas semanas pré-parto e as 2-3 semanas PP, vários aspectos da função imunitária estão suprimidos (Kehrli *et al.*, 1989a,b; Mallard *et al.*, 1998, citados por LeBlanc, 2008). Embora as causas concretas que levam a essa imunossupressão, nesta altura, não estejam ainda esclarecidas, a diminuição na ingestão durante o peri-parto, de energia, de vitaminas e minerais, o BEN e a mobilização de gordura corporal e de proteínas, alterações dramáticas nos níveis de P₄ e de estrogénios no final da gestação, e o grande aumento de cortisol, no parto, parecem contribuir para tais défices imunitários (Goff & Horst, 1997; Kehrli *et al.*, 1999; e Ingvarsen, 2006, citados por LeBlanc, 2008). As doenças microbianas do aparelho reprodutor da fêmea são as doenças economicamente mais importantes e as mais comuns no cenário da reprodução bovina. São uma importante causa de infertilidade nas vacas, pois são responsáveis pela interrupção da função uterina e ovárica no PP (Sheldon, Lewis, LeBlanc & Gilbert, 2006; Sheldon, Cronin, Goetze, Donofrio & Schuberth, 2009).

A contaminação bacteriana do lúmen uterino nas primeiras 2 semanas PP ocorre em 80-90% dos animais (Sheldon *et al.*, 2009). Durante várias semanas após o parto, decorrem vários ciclos de contaminação bacteriana, limpeza e recontaminação. Em muitas fêmeas a contaminação bacteriana é resolvida pela involução uterina, nomeadamente pela expulsão da lóquia e através de uma eficaz resposta imunitária (Potter, Guitian, Fishwick, Gordon & Sheldon, 2010). A expressão das infecções uterinas clínicas depende do balanço entre alguns factores nomeadamente, o animal, o seu sistema imunitário, o número de agentes patogénicos presentes no útero e o ambiente deste. Geralmente, a sua incidência está entre os 2-5%, mas pode tornar-se mais elevada em animais com distócia, gémeos e quando há presença de agentes patogénicos endémicos. No entanto, cerca de 50% das vacas, 40-60 dias depois de parirem têm neutrófilos no lúmen uterino e no endométrio, concomitantemente com inflamação dos tecidos e endometrites subclínicas (Kasimanickam *et al.*, 2004; Gilbert *et al.*, 2005, citados por Sheldon *et al.*, 2008). As infecções uterinas

estão normalmente associadas a retenções placentárias, partos distócicos, partos gemelares, condição corporal fraca ou excessiva, alimentação com excesso de proteína altamente degradável no período seco e também efectivos numerosos (Risco, Youngquist & Shore, 2007)

Fig. 6 – A imagem ilustra a incidência das doenças bacterianas no útero no PP. Os círculos representam as bactérias que são isoladas no útero das vacas no PP. A área a vermelho representa a percentagem de animais com metrites, a laranja representa os animais com endometrites clínicas e a azul, os animais que desenvolveram um PP normal, sendo que a restante área a branco representa os animais que desenvolveram endometrites subclínicas. Extraído de Sheldon, Cronin, Goetze, Donofrio & Schuberth (2009).



2.6.1. Metrite puerperal

- Etiologia e definição – a metrite puerperal é extremamente comum em vacas de aptidão leiteira e deve-se principalmente à infecção do útero por bactérias, normalmente até aos primeiros 10 dias após o parto (Hillman & Gilbert, 2008; Sheldon *et al.*, 2008). Esta condição caracteriza-se por uma severa reacção inflamatória que envolve todas as camadas do útero (endométrio, submucosa, muscular e serosa) (Bondurant, 1999).

A metrite puerperal tem múltiplos factores que contribuem para a sua etiologia, severidade e duração (Benzaquen, Risco, Archbald, Melendez, Thatcher & Thatcher, 2007), assumindo-se que uma combinação única entre a função dos neutrófilos, uma involução uterina anormal e a infecção do útero origina a doença (Radostits *et al.*, 2006). Calcula-se que a metrite ocorra em cerca de 40% das vacas de produção leiteira (Sheldon *et al.*, 2009) e que, entre esses animais, cerca de 18,5 - 21%, desenvolvem igualmente, sinais sistémicos, como pirécia, por exemplo (Drillich *et al.*, 2001; Benzaquen *et al.*, 2007). É comum uma infecção polimicrobiana (Radostits *et al.*, 2006). Contudo, a bactéria mais frequente, nesta primeira fase do PP, é *Arcanobacterium pyogenes*. O *Fusobacterium necrophorum*, *Prevotella melaninogenica* e outros anaeróbios, usualmente, complicam a situação (Hillman & Gilbert, 2008).

O maior factor de risco para o desenvolvimento de uma metrite puerperal é a retenção placentária (LeBlanc, 2008). No entanto, várias outras condições têm também influência,

como é o caso de partos distócicos, partos gemelares, falta de higiene no local do parto, lipidose hepática, atonia uterina e contaminação iatrogénica do útero (Sheldon *et al.*, 2006; Hillman & Gilbert, 2008).

- Sinais clínicos – os sinais clínicos mais frequentes são: descargas uterinas aquosas de cor vermelho-acastanhadas com cheiro fétido presentes na vulva, depressão, hipertermia entre 39,5-41°C, anorexia, taquicárdia e, por vezes, taquipneia, as contracções ruminais podem estar diminuídas ou mesmo ausentes, desidratação e, em casos mais graves, quebras na produção de leite, sinais esses que, normalmente, surgem nos 21 dias PP. À palpação rectal, encontra-se um útero de dimensões aumentadas (Radostits *et al.*, 2006; Hillman & Gilbert, 2008; LeBlanc, 2008; Sheldon *et al.*, 2008). Em alguns casos, em que há uma infecção bacteriana severa, a pirécia não foi observada (Sheldon *et al.*, 2006).
- Prognóstico – embora as metrites moderadas, normalmente, se resolvam espontaneamente, metrites persistentes ou severas, causam patologia grave do endométrio podendo ameaçar a fertilidade futura. Em muitos casos, inflamações endometriais moderadas persistem na ausência de descargas uterinas e desenvolvem-se sob a forma de endometrites subclínicas (Hillman & Gilbert, 2008).
- Tratamento – a metrite puerperal é uma das mais importantes doenças nas vacas de produção leiteira, pelo facto de causar elevadas perdas económicas, nomeadamente nos custos dos tratamentos, nas perdas na produção de leite e nas reduzidas “performances” reprodutivas futuras (Drillich *et al.*, 2001). O tratamento das metrites puerperais justifica-se por beneficiar o bem-estar do animal e por reduzir a probabilidade de morte nos casos mais severos e, tem vindo a ser instituído, por rotina, com o objectivo de o animal retomar, o mais rapidamente possível, o seu nível esperado de produção. Em estudos recentes, os resultados esperados são a redução da febre em 67-77% dos animais tratados, depois de 5-10 dias de tratamento. A eliminação das descargas fétidas pode ser mais difícil de resolver, neste período (Chenault *et al.*, 2004, citados por Leblanc, 2008; Drillich *et al.*, 2001; Drillich, Reichert, Mahlstedt & Heuwieser, 2006b).

A maioria dos estudos realizados recomenda o uso de antibióticos sistémicos para o tratamento de vacas com metrite puerperal (Drillich *et al.*, 2001; LeBlanc *et al.*, 2002b), para além dos antipiréticos e fluidoterapia, anti-inflamatórios não esteróides (AINE`s) e até lavagens uterinas com soluções de iodo diluídas ou soluções salinas, realizadas de forma suave e com muito cuidado pelo facto de o útero se encontrar muito friável (Hillman & Gilbert, 2008; Marques Júnior, Martins & Borges, 2011). Um vasto leque de antibióticos pode ser utilizado no tratamento de metrites, sendo mais aconselhado o uso de antibióticos de largo espectro, como são as oxitetraciclinas, enrofloxacinas, cefalosporinas, sendo o ceftiofur o mais comum, penicilina e ampicilina (Sheldon, 2004; Hillman & Gilbert, 2008). Num estudo realizado por Overton *et al.* (2003), citados por LeBlanc (2008), a administração de ceftiofur, de 24-24 horas, durante 5 dias IM, a partir dos 3 dias PP, a vacas múltiparas e

com elevado risco de desenvolver metrite, constatou-se que houve uma redução considerável da incidência de descargas fétidas. Deste modo, o uso de ceftiofur há que ser considerado sempre de primeira escolha para o tratamento de animais com metrite ou em risco de vir a desenvolver esta condição (Risco & Hernandez, 2003). A administração intrauterina de antibióticos tem vindo a ser muito discutida, pelo valor da sua execução, pelo que esta prática não está claramente demonstrada como sendo benéfica ou não (Sheldon, 2004). No entanto, há quem defenda que a administração intrauterina de uma cefalosporina, cefapirina (Metricure[®]), tem vantagens contra os microrganismos produtores de β -lactamases e, está demonstrado que traz benefícios nas “performances” reprodutivas (LeBlanc, *et al.*, 2002b; Radostits, Gay, Hinchcliff & Constable, 2006). Uma alternativa à antibioterapia intrauterina é a lavagem uterina (Sheldon, 2004), que já foi referida anteriormente. O uso de anti-inflamatórios não esteróides pode ser benéfico em casos de gravidade moderada, mas em casos mais severos, podem ser muito prejudiciais, pois podem causar imunossupressão e assim, potencializar a infecção (Sheldon, 2004).

Relativamente ao arsenal hormonal, a terapêutica com estradiol não está aconselhada, pois, para além de aumentar a circulação sanguínea no útero, o que pode exacerbar a toxémia, está provado que o estradiol está associado a períodos anovulatórios superiores a 40 dias PP, o que prejudica a eficiência reprodutiva (Sheldon, 2004). Em relação ao uso de prostaglandinas no tratamento de metrites, também é um pouco controverso, pois há autores que defendem que a $\text{PGF}_{2\alpha}$ só traz benefícios em animais com um CL funcional, o que não acontece com animais com metrites puerperais. Contudo, há quem defenda que o uso de $\text{PGF}_{2\alpha}$ em metrites severas é um bom adjuvante à terapêutica sistémica, pois acelera a evacuação da lóquia através do aumento da contracção uterina e, também parece aumentar a actividade fagocitária (Archbald *et al.*, 2006). Num estudo realizado por Hirsbrunner *et al.* (2003), citados por Archbald *et al.* (2006), demonstrou-se que o cloprostenol (análogo da $\text{PGF}_{2\alpha}$) prolongou as contracções uterinas por aproximadamente 45 minutos após a administração e, que a pressão intrauterina também aumentou por cerca de 15 minutos. Melendez, McHale, Bartolome, Archbald & Donovan (2004) realizaram um estudo que consistiu em administrar 2 doses de $\text{PGF}_{2\alpha}$ com um intervalo de 8h entre elas, no dia 8 PP e verificaram que, em vacas primíparas com metrite puerperal houve melhoria no tratamento e na involução uterina. Ainda assim, o uso de $\text{PGF}_{2\alpha}$ é uma questão controversa, pois os mecanismos de actuação das prostaglandinas só estão parcialmente entendidos (Archbald *et al.*, 2006; Hillman & Gilbert, 2008).

Normalmente, fêmeas com metrites puerperais têm maior probabilidade de desenvolver cetoses ou hipocalcémias. Logo, o tratamento para estas doenças tem que ser realizado concomitantemente (Hillman & Gilbert, 2008).

2.6.2. Endometrite Clínica

- Etiologia e definição – como entidade patológica, a endometrite é uma inflamação do revestimento do endométrio, sem sinais sistêmicos, que está associada à inflamação crónica do útero, após o parto, por bactérias patogénicas (Bondurant, 1999; Lewis, 1997, citado por LeBlanc *et al.*, 2002a). Caracteriza-se pela presença de secreções uterinas purulentas (> 50% pús) 21 dias PP, ou mucopurulentas (aproximadamente 50% de pús e 50% de muco), 26 dias ou mais PP, mas não é acompanhada de sinais sistémicos (LeBlanc *et al.*, 2002a; Sheldon *et al.*, 2006; Sheldon *et al.*, 2008). Esta condição pode surgir depois do parto, da cópula, de uma inseminação artificial ou até mesmo depois da infusão de substância irritante na cavidade uterina (Risco, Youngquist & Shore, 2007). Os microrganismos associados à endometrite, normalmente, infectam o útero por via ascendente (Bondurant, 1999).

O risco de ocorrência de endometrites clínicas aumenta em caso de retenção placentária, em partos gemelares ou distócicos e, com metrites puerperais complicadas (Hillman & Gilbert, 2008). A prevalência de endometrites, numa análise de 43 estudos, variou entre 2,2-37,7%, com uma média de 10,1% de animais afectados (Kelton, Lissemore & Martin, 1998). De acordo com Hillman & Gilbert (2008), a incidência de endometrites varia entre os 7,5 e os 8,9% nos efectivos de vacas leiteiras, com base na presença ou número de descargas vaginais mucopurulentas. No entanto, estes autores referem que a interpretação destes dados tem que ser cautelosa, pelo facto de haver uma grande percentagem de casos que correspondem a uma inflamação transitória e fisiológica do útero, característica do período de PP em bovinos leiteiros.

Normalmente, as fêmeas que desenvolveram endometrite clínica, demoram em média, mais 32 dias para ficarem novamente gestantes, que as vacas de puerpério normal. Verifica-se, também, um ligeiro atraso (de 3 dias, em média) relativamente ao tempo de inseminação (Hillman & Gilbert, 2008), e cerca de 27% dos animais têm uma redução relativa na taxa de gestação (LeBlanc, 2008).

- Sinais clínicos – para além do que já foi referido, relativamente às descargas uterinas purulentas ou mucopurulentas associadas à infecção bacteriana crónica do endométrio, histologicamente, a endometrite caracteriza-se pela infiltração do epitélio endometrial, por células inflamatórias e acumulação de linfócitos, congestão vascular e edema do estroma (Bonnett, Martin, Gannon, Miller & Etherington, 1991; Bondurant, 1999).

- Prognóstico – de acordo com Fourichon *et al.* (1999), citados por LeBlanc (2008), os casos de endometrite clínica não costumam a acabar em morte, nem em grandes perdas na produção de leite. Assim sendo, as maiores perdas registadas são relativas à ineficiência reprodutiva, aos custos de tratamento, ao abate da fêmea repetidora e, ao aumento do risco de resíduos medicamentosos nos produtos de origem animal (LeBlanc, 2008).

- Tratamento – o princípio da terapêutica das endometrites é a redução da quantidade de bactérias patogénicas no útero e estimulação das defesas uterinas, bem como contrariar as alterações inflamatórias que são inimigas da fertilidade. Uma grande variedade de terapias para as endometrites têm vindo a ser estudadas, incluindo o uso de antibióticos, tanto sistémicos como locais e, até o uso sistémico de $\text{PGF}_{2\alpha}$ (LeBlanc, 2008). Esta tem vindo a ser utilizada como tratamento de escolha em casos de animais com endometrites e com CL funcional (Sheldon, 2004). Na presença de um CL, a $\text{PGF}_{2\alpha}$ vai provocar a luteólise, diminuindo a concentração de P_4 e induzindo o estro, com o aumento dos níveis de estrogénios e, conseqüentemente, das contracções do miométrio, o que leva à evacuação dos fluidos uterinos (Hillman & Gilbert, 2008; LeBlanc, 2008). Estes eventos são favoráveis à limpeza do útero. O mecanismo preciso de como a $\text{PGF}_{2\alpha}$ resolve a infecção uterina não é inteiramente conhecido (Lewis, 2004) e há uma grande controvérsia relativamente ao uso da $\text{PGF}_{2\alpha}$ em situações em que não está presente um CL e quanto ao seus outros efeitos, para além da luteólise (Gilbert & Schwark, 1992, citados por LeBlanc, 2008). Aparentemente, os receptores para a $\text{PGF}_{2\alpha}$ estão presentes no miométrio e, há evidência de que, a $\text{PGF}_{2\alpha}$ pode exercer algum efeito contráctil no útero, na ausência de um CL funcional (Rodríguez-Martínez *et al.*, 1987; Hirsbrunner *et al.*, 1998 citados por LeBlanc, 2008). De qualquer forma, nesta fase, a administração da $\text{PGF}_{2\alpha}$ é inofensiva para a fêmea e, pode trazer benefícios, não sendo o seu custo muito elevado, nem há o perigo de resíduos no leite (Hillman & Gilbert, 2008; LeBlanc, 2008). Relativamente ao uso de antibióticos, actualmente a escolha mais frequente é a infusão intrauterina (IU) de cefapirina, uma cefalosporina da primeira geração (Metricure[®]), que se tem mostrado bastante eficaz na melhoria da “performance” reprodutiva de vacas que se encontram em risco de desenvolver doença uterina e das que apresentam endometrites clínicas moderadas a severas (Hillman & Gilbert, 2008). Em estudos realizados por LeBlanc *et al.* (2002a,b) fêmeas tratadas com uma dose cefapirina IU, outras com $\text{PGF}_{2\alpha}$, e outras que não foram tratadas, os autores tiveram resultados positivos naqueles animais que foram tratados com a Cefalosporina a partir das 4 semanas PP, relativamente àqueles não foram tratados, com significativa melhoria da eficiência reprodutiva. O tratamento realizado antes das 4 semanas PP não demonstrou trazer grandes benefícios. As vacas tratadas com $\text{PGF}_{2\alpha}$ não tiveram grandes melhorias relativamente aos animais não tratados. Muitas vezes, as endometrites agudas são condições temporárias e, após vários ciclos éstricos, a bactéria infectante do útero acaba por ser eliminada, espontaneamente (Risco, Youngquist & Shore, 2007).

2.6.3. Endometrite Subclínica

- Etiologia e definição – a endometrite subclínica caracteriza-se por inflamação do endométrio, com ausência de sinais clínicos de endometrite e é diagnosticada por citologia, na ausência de material purulento na vagina, resultando numa significativa redução da eficiência reprodutiva (Hillman & Gilbert, 2008; Sheldon, *et al.* 2009). Embora o diagnóstico da endometrite subclínica deva ser realizado precocemente, a presença de valores superiores a 5% de neutrófilos no lúmen uterino, 40 dias após o parto, está relacionada com um défice reprodutivo futuro (Hillman & Gilbert, 2008). Esta condição é identificada por meio da contagem de neutrófilos presentes no conteúdo uterino, sendo que mais de 18% de neutrófilos em relação às células epiteliais do endométrio, entre 21 e 33 dias pós-parto ou, mais de 10% entre 34 e 47 dias pós-parto, é indicativo de estarmos perante um caso de endometrite subclínica (Marques Júnior, Martins & Borges, 2011). A endometrite subclínica, diagnosticada por citologia, afecta cerca de 35-50% dos animais, entre os 36 e 60 dias em lactação e está associada a uma substancial redução da taxa de gestação e a um aumento do intervalo parto-concepção, de 30-88 dias (Kasimanickam *et al.*, 2004; Gilbert, Shin, Guard, Erb & Frajblat, 2005).

A endometrite subclínica está associada a uma fraca ingestão de matéria seca no período de duas semanas pré-parto, a um balanço energético negativo e a uma insuficiente função imunitária do animal (Hillman & Gilbert, 2008).

- Tratamento – o uso de cefapirina em infusão intrauterina ou o uso de PGF_{2α} tem-se mostrado benéfico relativamente à taxa de concepção ao primeiro serviço e à taxa de gestação (Hillman & Gilbert, 2008; Kasimanickam *et al.*, 2005a, citados por LeBlanc, 2008).

2.6.4. Piómetra

- Etiologia e definição – a piómetra caracteriza-se pela acumulação intrauterina de material purulento ou mucopurulento e pela distensão uterina, na presença de um CL persistente e por ausência do estro (Noakes, Wallace & Smith, 1990, citados por Sheldon *et al.*, 2006; Hillman & Gilbert, 2008). Aparentemente, uma falha no factor luteolítico endometrial ou das prostaglandinas endógenas, leva a que não ocorra a luteólise e faz com que a vaca se comporte como gestante, sendo suprimido o estro (Hillman & Gilbert, 2008). Muitas vezes, este cenário ocorre em vacas que tiveram a sua primeira ovulação PP, antes de se ter dado a completa eliminação das bactérias do útero. Assim sendo, o CL tem uma vida mais longa do que o normal, pois a presença de fluido intrauterino previne a luteólise. Deste modo, a P₄ continua a dominar o útero, suprimindo os seus mecanismos de defesa (Hussain, 1989, citado por Risco, Youngquist & Shore, 2007).

As mesmas circunstâncias que levam ao desenvolvimento de uma endometrite podem também, levar ao aparecimento da piómetra (Hillman & Gilbert, 2008). No entanto, esta é menos comum que a endometrite, pois é responsável por menos de 5% das doenças

uterinas (Sheldon, Williams *et al.*, 2008). Ainda assim, também pode ocorrer após uma morte embrionária associada à infecção. O *A. pyogenes* é o microrganismo mais comum nos casos de piómetra, contudo o *Tritrichomonas foetus* tem sempre que ser considerado, pois a piómetra pode surgir como resultado de uma tricomoníase (Risco, Youngquist & Shore, 2007; Hillman & Gilbert, 2008).

- Sinais clínicos – a ausência dos sinais de estro, persistência do CL e a acumulação de fluido no útero são os principais sinais clínicos (Hillman & Gilbert, 2008). No entanto, embora a cérvix esteja fechada, pela acção da P₄, o encerramento total da cérvix nem sempre é possível e algum pús pode surgir na vagina (Sheldon *et al.*, 2006).
- Prognóstico – raramente é acompanhado de outros sinais clínicos, senão o anestro prolongado e, raramente põe em risco a vida do animal. A maior parte dos animais recuperam espontaneamente, caso a condição seja diagnosticada e tratada a tempo (Risco, Youngquist & Shore, 2007). No entanto, a duração da piómetra está inversamente relacionada com a futura fertilidade do animal. Vacas com piómetra durante mais de dois meses e com grande quantidade de pús, têm menos hipóteses de sucesso reprodutivo. Muitas vezes, numa percentagem pequena, em casos de vacas tratadas para piómetras, há a recorrência da afecção, quistos ováricos e/ou aderências uterinas (Hillman & Gilbert, 2008).
- Tratamento – o tratamento com PGF_{2α}, ou os seus análogos, tem-se mostrado muito eficaz no caso de piómetras. A maioria dos casos resolve-se com sucesso após a administração de uma ou mais doses de PGF_{2α}. Os tratamentos podem ser repetidos com 14 dias de intervalo (Hillman & Gilbert, 2008).

Tabela 2 – Abordagem diagnóstica e sinais clínicos de infecções uterinas em vacas. Adaptado de Marques Júnior, Martins & Borges (2011).

Tipo de infecção uterina	Período ocorrência	Sinais clínicos
Metrite puerperal	Tem início na primeira semana e pode persistir até o final da segunda semana pós-parto.	Os sintomas estão associados à retenção de placenta, distocias, abortos ou partos gemelares. Verificam-se secreção vaginal sanguinopurulenta com odor fétido e sinais sistêmicos, como febre (temperatura retal >39,5°C), desidratação, anorexia, depressão e queda na produção de leite.
Endometrite clínica	Pode ocorrer além de 21 dias pós-parto.	Secreção vaginal purulenta além de 21 dias após o parto, ou presença de conteúdo mucopurulento na vagina além de 26 dias pós-parto.
Endometrite subclínica	Após o período voluntário de espera.	Somente é identificada por meio da contagem de neutrófilos presentes no conteúdo uterino: mais de 18% de neutrófilos em relação às células epiteliais do endométrio, entre 21 e 33 dias pós-parto, ou mais de 10% entre 34 e 47 dias pós-parto.
Piometra	Em qualquer fase do puerpério.	Retenção de conteúdo purulento ou mucopurulento no útero e cérvix fechada, mais comum em animais com rápido retorno da ciclicidade pós-parto (presença de corpo lúteo).

2.6.5. Retenção Placentária (RP)

- Etiologia e definição – a retenção placentária define-se como sendo o atraso na expulsão das membranas fetais que deveria ocorrer entre as 6-8 horas após o parto, em condições consideradas normais. Se houver retenção das membranas fetais por mais de 8-12 horas, a situação é considerada anormal (Radostits *et al.*, 2006; Hillman & Gilbert, 2008). A expulsão normal das membranas fetais envolve três componentes fundamentais que têm que decorrer simultaneamente:

- A maturação da placenta associada às correspondentes alterações endócrinas na fase final da gestação e perto do parto;
- A hemorragia do lado fetal da placenta, para que se dê a atrofia e colapso das vilosidades cotiledonares, de modo a que estas se separem das criptas das carúnculas;
- Uma suficiente contracção miométrial com a distorção dos placentomas.

As causas que levam à falha na expulsão das membranas fetais são complexas, mas pensa-se que estão envolvidos três factores principais (Jackson, 2004):

- Contracção insuficiente do miométrio;
- Falha na separação da placenta do endométrio por diversas causas, como por exemplo, causas inflamatórias, placentas imaturas, desequilíbrios hormonais, neutropénia, falha na migração de polimorfonucleares para os locais de separação e possivelmente, imunodeficiência;
- Obstrução mecânica, incluindo dilatação incompleta da cérvix.

Vacas que sofreram aborto, por causas infecciosas ou mesmo esporádico, durante a segunda metade da gestação, têm grandes probabilidades de vir a desenvolver RP, bem como as fêmeas com hidrúpsia uterina, torção uterina, distócias em geral, “stress”, com hipocalcémias e, que, foram alvo de indução do parto com corticosteróides, por exemplo (Jackson, 2004; Hillman & Gilbert, 2008). A incidência de retenções placentárias varia entre os 3-27% entre as explorações. A incidência em partos singulares é de 10%, enquanto em partos duplos atinge os 46%. Metrite ocorre em cerca de 50% dos animais que têm RP e a probabilidade destas vacas desenvolverem metrites é 25 vezes superior a de animais sem RP (Radostits *et al.*, 2006). Ocasionalmente, a incidência pode aumentar num efectivo, durante uma época. Esta é uma situação, muitas vezes, mal diagnosticada (Jackson, 2004), mas poderá ter ligação com deficiências em Vitamina A, Vitamina E/Selénio e carotenos, assim como, ocorrer em vacas muito gordas durante o período de secagem (Jackson, 2004; Hillman & Gilbert, 2008). Vacas que se encontrem em balanço energético negativo, têm cerca de mais de 80% de probabilidade de desenvolverem RP (LeBlanc, Herdt, Seymour, Duffield & Leslie, 2004).

- Sinais clínicos – o sinal clínico mais evidente são as membranas placentárias penduradas na vulva. Com o passar do tempo, as membranas vão-se decompondo e começa a ser evidente um cheiro fétido. Em alguns casos, as membranas não estão visíveis

no exterior, sendo necessário um exame vaginal para as detectar (Jackson, 2004). Ao exame vaginal de uma fêmea com RP, também é comum encontrar-se grandes quantidades de fluido de cor castanho-avermelhada, de muito mau cheiro (Radostits *et al.*, 2006).

A metrite é a complicação secundária mais frequente, estando todos os sinais dessa condição presentes, nesse caso. Doenças secundárias podem surgir em casos de RP associadas a metrite, como é o caso de mastites, doenças metabólicas, infecções urinárias ascendentes, deslocamento do abomaso, entre outras menos frequentes (Hillman & Gilbert, 2008).

- Prognóstico e fertilidade futura – casos pouco complicados de RP, normalmente não trazem grandes complicações para a fertilidade futura da vaca, nem para o período parto-concepção. Contudo, casos de RP que evoluam para uma metrite clínica, conduzem a aumentos significativos deste último índice (Radostits *et al.*, 2006). Embora a fertilidade muitas vezes, não seja afectada, quebras na produção de leite podem ser consideráveis, caso a RP evolua para uma metrite (Fourichon *et al.*, 1999, citados por LeBlanc, 2008). Por sua vez, também o retorno ao cio pode estar atrasado. Danos permanentes no trato reprodutivo são pouco frequentes e, assim que o animal volta a ciclar, é pouco provável que a fertilidade seja afectada (Jackson, 2004).

- Tratamento – infelizmente, existem poucos tratamentos eficientes para RP e, as hipóteses actuais são mais baseadas na tradição, que na evidência. Muitos têm sido os tratamentos utilizados, no entanto, a eficácia é questionável. A remoção manual da placenta continua a ser uma prática comum, embora muitos estudos tenham demonstrado que não traz vantagens para a “performance” reprodutiva, nem na produção de leite (Drillich, Mahlstedt, Reichert, Tenhagen & Huewieser, 2006a; Moller *et al.*, 1967; Dyrendahl *et al.*, 1977; Kulasekar *et al.*, 2004, citados por Beagley, 2010). Trabalhos recentes, em que se compararam dois métodos para o tratamento de animais febris com RP sendo um a dequitação manual associada à administração intrauterina de antibióticos e o outro, a antibioterapia sistémica, ambos revelaram não haver grande diferença nos resultados reprodutivos obtidos (Drillich *et al.*, 2006a; Drillich *et al.*, 2006b).

Após imenso trabalho realizado na área do tratamento da RP, a prática menos invasiva e menos manipulativa está associada à antibioterapia intrauterina ou sistémica (dependo da necessidade ou do grau de metrite que o animal apresentar) e tem-se mostrado satisfatória na redução da mortalidade das vacas afectadas. As decisões relativas à melhor estratégia a utilizar no tratamento, baseiam-se na existência de metrite ou de outras doenças que possam coexistir com a RP (Hillman & Gilbert, 2008).

As hormonas mais utilizadas no tratamento de RP são a PGF_{2α} e a oxitocina. Estas hormonas assumem um papel muito importante na contracção uterina e podem ser eficientes, em casos de atonia uterina (Beagley *et al.*, 2010).

De acordo com Sheldon (2004), uma abordagem racional de vacas com RP será a de examinar todas as vacas até 5 dias PP e, se alguma revelar febre ou anorexia ou ainda, redução na produção de leite, tratar o animal para metrite. Se apresentarem sinais sistêmicos, proceder à limpeza e desinfecção da vulva e tentar remover, gentilmente, a placenta, torcendo e traccionando-a na vagina, sem entrar na cérvix. Se tal não resultar, corta-se a parte da placenta exterior ao nível da vulva, de modo a evitar a contaminação bacteriana e infecções ascendentes.

Uma nova abordagem à terapêutica da RP consiste na injeção de collagenases nas artérias umbilicais que não foram afectadas pela RP. Esta abordagem é mais vantajosa, relativamente às tradicionais, pois o tratamento é direccionado, especificamente para a ausência de proteólise nos cotilédones. Essas collagenases têm origem bacteriana, nomeadamente no *Clostridium histoloticum* (Eiler & Fecteau, 2007). Para além da eficácia no tratamento, o uso das collagenases também é muito eficaz para a prevenção da RP (Radostits *et al.*, 2006), sendo particularmente útil o seu uso em casos em que é necessário o recurso a cesariana, pelo facto de as artérias umbilicais serem de mais fácil acesso (Eiler & Fecteau, 2007). No entanto, embora seja um método com bons resultados, é uma substância relativamente cara e é uma técnica de difícil execução, principalmente porque em muitos animais o acesso às artérias umbilicais não é fácil. Como resultado, a injeção de collagenases pelos médicos veterinários no campo, não é muito frequente (Radostits *et al.*, 2006).

3. Fertilidade

O objectivo final na indústria da produção de leite é o de operar num sistema economicamente eficiente, o que depende de uma alta eficiência reprodutiva e, por conseguinte, de uma boa fertilidade do efectivo (Royal, Darwash, Flint, Woolliams & Lamming, 2000).

Darwash *et al.* (1997), citados por Pryce, Royal, Garnsworthy & Mao (2004), definiram fertilidade, como sendo: “A habilidade de uma fêmea conceber e manter uma gestação, se servida num tempo apropriado em relação à ovulação”. Uma falha no estabelecimento de uma gestação com sucesso pode dever-se, a falha na detecção do cio, em ovular, padrões inapropriados de ciclicidade ovárica e, até mesmo, morte embrionária ou fetal (Royal *et al.*, 2000). Em todas as circunstâncias, uma boa fertilidade em vacas produtoras de leite, resume-se em conseguir uma gestação no tempo desejado para aquele animal (Pryce *et al.*, 2004).

3.1. Índices reprodutivos

Muitos parâmetros são utilizados para monitorizar o estado e a tendência reprodutiva de uma exploração de bovinos leiteiros. Para a maioria dos produtores estes parâmetros são a principal forma de monitorizar a eficácia reprodutiva dos seus efectivos (Fetrow, Stewart, Eicker & Rapnicki, 2007). Uma avaliação regular e precisa do estado da fertilidade num efectivo é de extrema importância e para isso, é necessário quantificar certos valores reprodutivos através do acesso total aos dados relativos aos eventos reprodutivos da exploração (Parkinson & Noakes, 2001).

De entre todos os parâmetros que podem ser estudados de modo a maximizar a fertilidade de um efectivo, os seguintes são os que parecem ser de maior importância e que melhor traduzem a situação reprodutiva do efectivo de uma exploração:

- **Intervalo entre partos:**

∞ O intervalo entre partos define-se como sendo o intervalo de tempo (expresso em dias) entre partos sucessivos (Parkinson & Noakes, 2001). Este parâmetro tem sido utilizado desde há muito tempo por médicos-veterinários, pois baseia-se em factos concretos, específicos e fáceis de registar (2 partos consecutivos) (Rocha & Carvalheira, 2002) e, principalmente, porque permite-nos saber qual o desvio de uma vaca ou da manada, relativamente ao número de dias estipulado que, normalmente é de 365 dias (Parkinson & Noakes, 2001).

No entanto, o cálculo deste parâmetro tem algumas desvantagens: primeiro porque se trata de um valor que tem por base factos que ocorreram num passado distante (mais de 9 meses atrás); e pelo facto de modificações notórias, por exemplo uma acentuada diminuição no intervalo parto – IA fecundante, só serão evidentes muito tempo depois de terem ocorrido (Rocha & Carvalheira, 2002). No cálculo deste valor, por vezes, os resultados podem surgir melhores do que na realidade são, especialmente se a taxa de refugo for elevada (Parkinson & Noakes, 2001). Como para o cálculo deste índice reprodutivo são necessários os registos de dois partos, automaticamente, as primíparas ficam excluídas do mesmo, o que também constitui uma desvantagem de peso (Rocha & Carvalheira, 2002; Fetrow *et al.*, 2007). Assim sendo, pode definir-se o intervalo entre partos como:

$$\text{Intervalo entre partos} = \text{intervalo parto} - \text{concepção} + 280 \text{ dias},$$

sendo o intervalo parto-concepção óptimo, de 85 dias.

- **Intervalo parto – 1ª IA:**

∞ É um índice muito útil, pelo facto de reflectir a eficiência da detecção de cios e definir o período de anestro PP. Este parâmetro pode ser calculado em intervalos de tempo curtos (por exemplo, trimestralmente), pelo que é útil como um indicador permanente da eficiência reprodutiva (Rocha & Carvalheira, 2002). No caso de um efectivo que pode parir ao longo do ano, um valor médio de 65 dias é o ideal, para se atingir o intervalo óptimo de 85 dias, entre o parto e o 1º serviço fecundante. Os factores que mais influenciam este índice são: a política reprodutiva da exploração (isto é, do período voluntário de espera), que poderá ser mais ou menos longo de acordo com a decisão do produtor; atrasos no reinício da actividade cíclica; má detecção de cios (Parkinson & Noakes, 2001). Uma desvantagem deste índice é o de não englobar nenhum factor de fertilidade (Rocha & Carvalheira, 2002).

- **Intervalo parto - IA fecundante:**

∞ Trata-se de um índice que engloba grande parte das características positivas do anterior. Contudo, é menos específico como indicador de anestro. Este parâmetro tem um valor acrescido em relação ao anterior, que é uma avaliação indirecta da fertilidade, pois quanto maior for o número de inseminações, mais elevado será o índice (Rocha & Carvalheira, 2002). É calculado através da contagem dos dias que vão do parto ao primeiro serviço fecundante que, normalmente, coincide com a data da última inseminação registada:

$$\text{Intervalo parto} - \text{IA fecundante} = a + b$$

onde *a* representa o intervalo médio entre o parto e o primeiro serviço, e o *b* representa o intervalo médio entre o primeiro serviço e o primeiro serviço fecundante (Parkinson & Noakes, 2001). De acordo com estes Autores, o *a* é em média, 65 dias, e o *b* é em média, 20 dias, o que perfaz os 85 dias.

- **Intervalo entre IA's ou estros:**

∞ O intervalo entre IA's, ou entre estros, permite-nos quantificar o número de dias entre estros ou entre serviços, num mesmo animal. O valor deste intervalo traduz-se num importante auxílio para avaliar a intensidade e a precisão da detecção de cios, assim como as perdas embrionárias ou fetais (Hardin, 1993). De acordo com Parkinson & Noakes (2001), pode categorizar-se esses intervalos de modo a obtermos informações relativas ao estado reprodutivo e de manejo do efectivo. Assim sendo, esses intervalos são subdivididos nos seguintes grupos: (a) 2-17 dias; (b) 18-24 dias, que corresponde ao intervalo normal entre estros ou serviços; (c) 25-35 dias; (d) 36-48 dias, que é o dobro do intervalo normal; e finalmente, (e) mais de 48 dias.

Quando temos registos elevados dos intervalos (a) e (c), normalmente é indicativo de uma deficiente detecção de cios. Entretanto, se temos registos elevados dos intervalos (c) e (d), podem estar associados a morte embrionária ou fetal. Desta forma, numa exploração bem organizada reprodutivamente, a percentagem normal relativa ao intervalo (a) deveria ser de 12%, a percentagem de (b), 53%, a percentagem de (c), 15%, de (d), 10%, e de (e), 10%. Deste modo, usando a distribuição das percentagens dos intervalos entre estros ou serviços, podemos calcular aquilo a que se chama de Eficácia de Detecção de Cios (EDC):

$$EDC = \frac{b + c}{a + b + c + 2(d + e)} \times 100$$

sendo que, uma boa EDC terá um valor de 50% ou mais (Parkinson & Noakes, 2001).

- **Índice de concepção:**

∞ Este índice pode definir-se como sendo o número de serviços realizados num determinado grupo de fêmeas (novilhas, primíparas e multíparas), durante um determinado período de tempo, e que resultaram num diagnóstico de gestação positivo, que tenha sido realizado nunca antes dos 42 dias, após a beneficiação. O resultado é expresso em percentagem e inclui as fêmeas que tenham sido entretanto, abatidas. O índice de concepção é influenciado por: a oportunidade da IA; a execução da técnica de IA, assim como, o maneo do material e sêmen; no caso de se utilizar o touro da exploração, a saúde e fertilidade do reprodutor; o estado nutricional do efectivo, principalmente durante a época reprodutiva; e, um factor de extrema importância, uma completa e saudável involução uterina (Ver ponto 2.3.1. Factores que influenciam a involução uterina) (Parkinson & Noakes, 2001). A única desvantagem deste índice é ser bastante trabalhoso e potencialmente dispendioso, se baseado no exame individual de todas as vacas inseminadas (Rocha & Carvalheira, 2002). O índice de concepção pode ser calculado através da fórmula:

$$\text{Índice de concepção} = \frac{n^{\circ} \text{ de fêmeas gestantes}}{n^{\circ} \text{ total de serviços (cobrição ou IA)}}$$

- **Taxa de gestação à 1ª IA:**

∞ Este método difere em muito pouco do anterior, pois em vez de serem utilizados nos cálculos, todos os serviços realizados, são apenas contabilizados os resultados respeitantes aos primeiros serviços (início da actividade reprodutiva, novilha ou após o parto, vaca) (Parkinson & Noakes, 2001). Deste modo, este índice calcula-se por:

$$\text{Taxa de gestação ao 1º serviço} = \frac{n^{\circ} \text{ de animais gestantes}}{n^{\circ} \text{ de animais servidos apenas 1 vez}}$$

- **Percentagem de vacas não gestantes ao Diagnóstico de Gestação:**

∞ A percentagem de animais que se apresentam, após o período voluntário de espera, não gestantes ao diagnóstico de gestação, é mais um índice de monitorização da eficácia da detecção de cios. Se existem animais a serem examinados para diagnóstico de gestação, e não estão gestantes, significa que o seu retorno ao cio não foi observado, o que demonstra uma fraca eficácia na detecção de cios.

Em regiões temperadas dos E.U.A., o valor óptimo para este parâmetro é inferior aos 10% (Braun, 1986), enquanto em Portugal este valor deve ser inferior a 15%.

Na tabela 3 estão reunidos os valores considerados óptimos, de acordo com Parkinson & Noakes (2001), para os índices reprodutivos que foram referidos anteriormente, relativamente a explorações de aptidão leiteira.

Tabela 3. Tabela onde estão representados os valores que, de acordo com os autores Parkinson & Noakes (2001), são considerados desejáveis de se atingir.

Índices reprodutivos	Valor desejado
Intervalo entre partos (dias)	365
Intervalo parto - 1ª IA (dias)	65
Intervalo parto - IA fecundante (dias)	85
Índice de concepção (%)	58
Taxa de gestação à 1ª IA (%)	60

3.2. Factores que afectam a fertilidade

De acordo com Senger (2001), o principal objectivo de todas as equipas que trabalham com efectivos bovinos leiteiros, é o de maximizar a eficiência produtiva desses animais, pois só assim é possível aumentar o lucro dessas explorações. Para que isso aconteça é necessário que haja um bom manejo reprodutivo, o que nem sempre é fácil porque existem muitos factores (denominados de factores da fertilidade) que podem determinar o sucesso. De todos os factores envolvidos, nem todos têm a mesma influência na fertilidade e foi por isso que Senger (2001) optou por os organizar de acordo com o grau de controlo técnico. O agrupamento dos mesmos, de acordo com o seu potencial controlo, veio a possibilitar às equipas que realizam o manejo reprodutivo, darem prioridade ao que de facto é mais importante.

Assim sendo, surgem três categorias que incluem: os factores de fertilidade controlados pelo Homem (1), os controlados pelo sistema reprodutor do animal (2), ou os naturais a qualquer efectivo bovino em produção (3).

Fig. 7 – Ilustração da organização dos factores condicionadores da fertilidade. Adaptado de Senger (2001).



Todos os factores de fertilidade que se encontram na categoria 1 são os que podem ser controlados quase na sua totalidade pelo homem, através das suas decisões e acções. Os melhoramentos na reprodução advêm principalmente, pelo bom entendimento e manejo destes factores (Senger, 2001). De seguida, serão abordados alguns destes factores:

- Detecção de cios – o uso da IA como principal método de reprodução em vacas de aptidão leiteira, resultou numa maior importância relativa da eficiência de detecção de cios (Parkinson & Noakes, 2001). Esta eficiência é, quase na sua totalidade, controlada pelo programa de detecção de cios estabelecido pela equipa de trabalhadores (Senger, 2001). A maioria das vacas apresenta comportamento de cio (Ver ponto 1.1.) numa determinada altura do estro. Se esses sinais são detectados ou não, depende de muitos factores, nomeadamente: tempo despendido na detecção dos cios; nível de instrução e qualidade e trabalho dos trabalhadores; organização da época de partos; condições do estábulo;

registos e identificação dos animais; recurso a métodos complementares para a detecção de cios (Parkinson & Noakes, 2001). Muitas vezes, a detecção dos sinais de cio é feita ao mesmo tempo que os trabalhadores realizam outras tarefas, o que se torna um problema, visto que, as vacas normalmente não apresentam comportamento de estro quando estão a descansar, a comer ou mesmo a serem ordenhadas (Senger, 2001). Existem diversos métodos disponíveis que podem ser utilizados para melhorar a eficiência de detecção de cios, como por exemplo: horários eficientes de observação dos animais; detectores de monta, provisão de iluminação adequada nos estábulos; circuitos-fechados de televisão; pedómetros; touros detectores de cios; vacas androgenizadas; testes semi-quantitativos de medição de P_4 no leite (“cow-side test”); programas de sincronização de cios; medidores de condutividade eléctrica vaginal; medição da temperatura corporal, entre outras (Parkinson & Noakes, 2001; Senger, 2001; Ball & Peters, 2004d). Contudo, esses métodos auxiliares de detecção de cios só são eficazes, se se mantiver uma observação cuidada e frequente das fêmeas, assim como, um bom sistema de registos e de identificação das mesmas (Ball & Peters, 2004d).

- Técnica da IA – uma das causas primárias da baixa fertilidade inclui, uma fraca técnica de inseminação, um mau manuseio do sêmen e baixa fertilidade do touro (Parkinson & Noakes, 2001). Erroneamente, muitos profissionais da área pensam que qualquer pessoa pode inseminar uma vaca com elevado grau de sucesso e, assim, a técnica de IA é, muitas vezes, um factor de fertilidade desvalorizado (Senger, 2001). Num estudo realizado por Davidson & Farver (1980), concluiu-se existirem diferenças significativas na fertilidade entre os vários touros utilizados em IA. Deste modo, é urgente que nos catálogos de touros de IA, esteja disponível informação útil relativa às diferenças de fertilidade entre os vários reprodutores (Senger, 2001), o que hoje em dia, já vai sendo comum.
- “Stress” e manuseio na exploração – o “stress”, inclui todos os factores que afectam o bem-estar e que diminuem as hipóteses dos animais atingirem os objectivos reprodutivos pretendidos. Existem várias causas de “stress” numa exploração, desde a debilidade física ou doença, a alterações bruscas da nutrição, entre outras (Ball & Peters, 2004c). No entanto, uma das principais causas é o “stress” hipertérmico, que tem grande influência no encurtamento do período de estro, na diminuição da taxa de concepção e no aumento da mortalidade embrionária (Senger, 2001). Para que as “performances” reprodutivas sejam boas, os animais têm que ser tratados com todo o cuidado nas etapas críticas da reprodução. Por exemplo, na altura da IA, o animal tem que ser bem tratado e, da mesma forma, a exploração tem que deter boas instalações, com “padoques” secos e seguros para que a rotina decorra da melhor forma possível. Outro exemplo poderá ser a alteração súbita dessa mesma rotina, como seja a mudança de parque ou de grupo de alimentação, este “stress” pode levar a uma diminuição da fertilidade (Ball & Peters, 2004c).

- Vacinação – nas explorações tem que haver um plano bem desenhado de imunização dos animais e o programa de vacinação não deverá ser limitativo para o desempenho reprodutivo, pois é um factor que se controla facilmente e pode ser corrigido (Senger, 2001). As principais doenças infecciosas que podem seriamente afectar a reprodução são a campilobacteriose, rinotraqueíte infecciosa bovina (IBR) e diarreia viral bovina (BVD). Para além da vacinação, boas práticas de higiene e de manejo, devem ser sempre realizadas, de modo a diminuir o risco de infecção (Ball & Peters, 2004c).
- Nutrição – as reservas corporais e a ingestão de nutrientes inadequadas, durante o início da lactação, são os principais factores nutricionais que afectam a “performance” reprodutiva dos bovinos leiteiros. Uma melhoria do balanço energético através do aumento da ingestão de energia na dieta, reduz os dias até à primeira ovulação e melhora a taxa de concepção (Santos, 2008). Relativamente à proteína, quando em excesso, particularmente em animais com BEN, pode reduzir as taxas de concepção (Canfield, Sniffen, & Butler, 1990; Roche, 2006). Há uma forte evidência que o manejo alimentar correcto no pré-parto é essencial para a saúde uterina. Suplementos com ácidos gordos insaturados também têm grande influência na fertilidade, desde que não interfiram com a flora microbiana do rúmen. Suplementos vitamínicos e selénio também têm um efeito positivo na saúde e reprodução dos animais (Santos, 2008). Quanto à condição corporal das fêmeas, estas devem ser alimentadas de modo atingirem uma condição corporal entre 2,5-3,5 (numa escala de 1-5) na altura do parto e não devem perder essa condição corporal, até à altura da concepção (Ball & Peters, 2004c).

Relativamente aos factores de fertilidade mencionados na categoria 2, estes estão sob influência directa do sistema reprodutivo da vaca. Assim sendo, estes factores são de difícil controlo por parte do Homem (Senger, 2001). Nesta secção do presente trabalho estes factores não serão abordados, pelo facto de já o ter sido feito anteriormente (Ver pontos 2.3.1. e 2.6).

Quanto aos factores incluídos na categoria 3, estes são inerentes a qualquer efectivo animal. A manipulação dos mesmos iria prejudicar seriamente o principal objectivo da exploração que é a produção da maior quantidade de leite possível. Embora estes factores influenciem os objectivos reprodutivos da exploração, pouco pode ser feito, pois são intrinsecamente naturais aos animais (Senger, 2001).

Uma vez mais, o factor Idade não será desenvolvido neste capítulo, pois já foi explorado no ponto 2.3.1.

No que consta à Raça do animal, a sua escolha irá depender da preferência pessoal do Produtor e nas características que esses animais apresentarem, principalmente em relação à produção leiteira. No entanto, parece haver algumas diferenças no parâmetro da fertilidade, entre as diferentes raças. Deste modo, uma vez constituído o efectivo, de

determinada raça, a fertilidade inerente à raça vai servir de base de partida, sobre qual a equipa terá que trabalhar (Senger, 2001).

A questão relativa à influência do nível de produção leiteira na fertilidade é controversa e tem sido imensamente debatida nas últimas décadas (Senger, 2001). O que é facto é que os objectivos que têm vindo a ser seleccionados para os efectivos, estão centrados na produção leiteira, e pouca atenção tem vindo a ser dada a características como a saúde e a fertilidade. É esperada uma tendência genética para o declínio da fertilidade, dado que as correlações genéticas são desfavoráveis e as tendências fenotípicas indicam uma diminuição de aproximadamente 1% por ano, nas taxas de gestação ao primeiro serviço (Royal *et al.*, 2000). Segundo Pryce *et al.* (2004), as correlações genéticas entre a fertilidade e a produção de leite não são favoráveis e estima-se que a fertilidade irá diminuir com o aumento do mérito genético dos animais para a produção leiteira. Deste modo, aqueles autores defendem que a longo prazo, uma solução sustentável para o declínio da fertilidade, será incluí-la nos objectivos reprodutivos das explorações.

Apesar de tudo, esta questão continua a ser muito controversa, com muitos a defender que existem inúmeros outros factores de fertilidade, com maior relevância, que têm que ser melhorados nesta categoria (Senger, 2001).

III. Trabalho experimental

1. Objectivos

A realização deste trabalho teve como principal objectivo fazer uma avaliação dos índices reprodutivos de uma exploração de bovinos leiteiros, na ilha de São Miguel (Açores), após a administração conjunta de uma cefalosporina e de uma PGF_{2α}, no intervalo das 0-12h PP, num efectivo da raça Holstein-Frísia.

Assim sendo, com este trabalho pretendeu-se:

- Verificar se esta medida profilática traria melhorias nos índices reprodutivos;
- Avaliar eventuais benefícios desta medida face à baixa fertilidade no gado bovino leiteiro em São Miguel, Açores;
- Analisar se haveria algum benefício económico em aplicar esta medida a todo o efectivo.

2. Desenho experimental

O estudo foi realizado entre 18 de Fevereiro e o final do mês de Julho de 2011. Teve por base 2 grupos de animais: Grupo “Tratados” que incluiu os animais aos quais foram administrados o antibiótico, Naxcel[®] via subcutânea, e a hormona, Dinolytic via intramuscular; e o Grupo “Não tratados”, com as fêmeas que não levaram o tratamento profilático e serviram de grupo de controlo.

Neste estudo, foram incluídas todas as fêmeas que pariram entre 18 de Fevereiro e 25 de Maio de 2011, tendo sido excluídas as que tiveram partos distócicos e que necessitaram outro tipo de terapêutica logo após o parto, como por exemplo, prolapsos uterinos e cesarianas. Foram também excluídas as vacas refugadas ou que morreram na exploração.

O trabalho consistiu na aplicação do tratamento após o parto, entre as 0-12h, tendo sido registadas, posteriormente, todas as condições do animal, como doenças PP, datas dosaios, inseminações artificiais, assim como qualquer outro tratamento instituído e direccionado à vertente reprodutiva. Após um mínimo de 45 dias da IA sem registo de retorno à actividade cíclica, a fêmea foi sujeita a um exame reprodutivo, por palpação rectal, para diagnóstico de uma eventual gestação.

3. Materiais e métodos

3.1. Caracterização da exploração em estudo

3.1.1. Maneio Geral

A exploração onde foi realizado o ensaio clínico, situada na localidade do Cabouco pertencente ao concelho de Lagoa, é uma exploração de bovinos leiteiros. Possui um efectivo de 300 animais, sendo que destes 300, 260 são animais em produção leiteira e vacas no período de secagem, estando os outros 40 nos grupos de vitelas e novilhas.

Esta exploração opera na base de um regime semi-extensivo, pelo facto de os animais passarem a maior parte do tempo em pastoreio, mas também em pátios fechados onde são alimentados com silagem e concentrado. As vacas em produção são ordenhadas duas vezes por dia: a primeira ordenha inicia-se às 6h:00m, e a segunda pelas 16h:00m, numa sala de duas linhas, cada uma com onze locais de ordenha, em espinha. A média de produção de leite por vaca/dia é de 28L, o que perfaz um total de 8540L de leite numa lactação de 305 dias.

A política de substituição dos animais em produção que entretanto morrem na exploração ou vão para abate, tem por base um sistema de substituição interna, por novilhas nascidas e criadas na exploração, através de um plano reprodutivo apoiado na inseminação artificial. Os vitelos machos são vendidos para engorda ou para o matadouro.

3.1.2. Maneio alimentar

A alimentação dos animais, tem por base um sistema de auto-produção, sendo alimentados por alimentos produzidos na exploração e/ou confeccionados através de matérias-primas adquiridas no exterior.

Cerca de 90% da alimentação dos animais é feita à manjedoura e os outros 10% nas pastagens, plantadas com Azevém.

O alimento à manjedoura é composto, essencialmente, por duas matérias-primas, bagaço de soja e farinha de milho, estando esta última misturada com um prémix onde estão incorporadas vitaminas, minerais e um tampão (Bicarbonato de Sódio + Óxido de Magnésio). As silagens, também produzidas na exploração, são de milho (com 30% de Matéria Seca), erva (com 30% MS) e, durante três meses do ano, são de polpa de beterraba prensada (com 12% MS). Assim sendo, esta dieta contém em média, entre 15-16% de proteína bruta.

Em suma, a vaca ingere, em média, por dia, o representado na Fig. 7:

Fig. 7 – Esquema representativo dos constituintes base da alimentação dos animais na exploração em estudo e das suas quantidades médias.



3.1.3. Maneio reprodutivo

Nesta exploração, devido ao facto de as instalações serem de reduzidas dimensões para o efectivo em questão, registam-se algumas dificuldades no exercício do maneio reprodutivo.

A detecção de cios é feita por observação de sinais de cio por parte dos funcionários, principalmente, na altura da ordenha, que constituem um factor de “stress”, muito devido às pequenas dimensões do espaço.

É política da exploração, que qualquer fêmea, que não tenha tido problemas aquando do parto ou no PP, e que já tenha atingido o período voluntário de espera de 45 dias, quando observada em cio, ser inseminada. Se houver animais com mais de 90-120 dias PP sem registo de cio, são sujeitos a um exame ginecológico, por palpação rectal, procedendo-se à indução do cio, caso a fêmea apresente condições para tal, normalmente através da administração de PGF_{2α}.

Nesta exploração, fêmeas com cerca de sete meses de gestação, são separadas da manada e incluídas no grupo chamado de “vacas secas”, i.e., animais que não estão em produção e que se estão a preparar para uma nova lactação. Neste grupo, os animais passam a alimentar-se apenas de pastagem e, aproximadamente quinze dias antes da data prevista para o parto, são introduzidos de novo na manada em produção para se habituarem novamente à alimentação (e, no caso das novilhas gestantes, para se acostumarem à rotina da ordenha). No primeiro dia da “secagem”, é administrada uma bisnaga de antibiótico intramamário de longa duração e vacina-se para Rotavírus, Coronavírus, para o Vírus Sincicial Respiratório Bovino e *E. coli*.

Quando a fêmea está próximo da data prevista para o parto é conduzida para um estábulo onde permanece num espaço com boas condições de higiene e conforto. Em vacas com três lactações ou mais, é-lhes administrado um balão de um litro de cálcio endovenoso, antes e depois do parto, de modo a evitar complicações metabólicas. Relativamente às novilhas de substituição, são criadas num grupo separado dos animais em produção, e por volta dos 18 meses de idade, são inseminadas.

3.1.4. Animais

Neste estudo foram utilizadas vacas, exclusivamente da raça Holstein-Frísia, com diferentes idades e diferente número de lactações, sendo os únicos critérios de exclusão, animais com prolapsos uterinos ou que tiveram resolução do parto por cesariana. O número médio de lactações nos animais foi 2,7 lactações, havendo animais com um máximo de 8 lactações e um mínimo de 1 lactação, sendo que os grupos em maior número são os de uma e duas lactações, como está demonstrado na Tabela 4 da página seguinte.

Tabela 4 – Representando os valores de análise descritiva da amostra de animais em estudo.

	n	Mínimo	Máximo	Média	Desvio Padrão
Nº lactações	27	1	8	2,70	1,683

3.1.5. Substâncias utilizadas no ensaio clínico

3.1.5.1. Antibiótico

O antibiótico utilizado neste trabalho foi o Naxcel[®]. Este fármaco tem como substância activa o Ceftiofur, uma cefalosporina da terceira geração. As cefalosporinas são antibióticos beta-lactâmicos, estrutural e farmacologicamente relacionados com as penicilinas. Estando no grupo dos antibióticos bactericidas, tal como as penicilinas, actuam inibindo a síntese da parede bacteriana. Apresentam uma boa difusão nos diferentes tecidos do organismo e, na sua maioria, são eliminadas por via renal (extraído de Autor anónimo, prontuário terapêutico). São resistentes a várias beta-lactamases bacterianas, principalmente contra aquelas que são produzidas por estafilococos (Ramsey, 2008). Sendo uma cefalosporina da 3ª geração, é activa contra bactérias Gram-negativas e Gram-positivas e, embora tenha um largo espectro de acção, é muito eficaz contra as que normalmente estão envolvidas na metrite puerperal, como a *Escherichia coli*, *Arcanobacterium pyogenes* e *Fusobacterium necrophorum*. Assim sendo, o Naxcel[®] está indicado para a metrite puerperal dos bovinos como tendo uma eficaz acção contra as bactérias acima referidas e, também está indicado para a necrobacilose interdigital (extraído do boletim informativo da especialidade farmacêutica Naxcel[®], 2010).

Para a administração deste fármaco é necessário apenas uma única aplicação, por via subcutânea, na base da orelha, sendo a dose recomendada de 6,6mg de ceftiofur/Kg de peso vivo (PV), o equivalente a 1mL do medicamento por 30Kg de PV. A administração é feita por detrás da orelha na junção com a cabeça, introduzindo a agulha de modo que a seringa aponte na direcção de uma linha imaginária que atravessa a cabeça até ao olho do lado oposto (ver Fig. 8) (extraído do boletim informativo da especialidade farmacêutica Naxcel[®], 2010).

Fig. 8 – Imagem ilustrando a administração subcutânea de Naxcel[®] atrás da orelha, na junção com a cabeça, assim como a linha imaginária para onde se deve apontar a seringa (extraído do boletim informativo da especialidade farmacêutica Naxcel[®], 2010).



Após a administração, o Ceftiofur é bem absorvido sendo rapidamente metabolizado em desfuroilceftiofur que para além de ter uma actividade antimicrobiana equivalente ao ceftiofur, é também o seu principal metabolito activo. A ligação do Ceftiofur e do seu metabolito às proteínas plasmáticas é rápida e cerca de 12h após a administração atinge a concentração plasmática máxima (extraído do boletim informativo da especialidade farmacêutica Naxcel[®], 2010).

Para o ensaio clínico foi escolhido o Ceftiofur, na apresentação em questão (Naxcel[®]), por não atingir os limites máximos de resíduos no leite, permitindo assim que o produtor não tenha nenhuma desvantagem com este tratamento, nem despesa para além do custo do produto e também por facilitar o maneio dos animais, dado ser de aplicação única.

3.1.5.2. Hormona

A hormona utilizada no ensaio clínico foi um análogo natural da PGF_{2α}, o dinoprost trometamina sob a fórmula farmacêutica de Dinolytic[®].

A PGF_{2α} tem vários efeitos no aparelho reprodutivo de uma fêmea, incluindo a estimulação da actividade miometrial, relaxamento da cérvix e a inibição da esteroidogénese pelo CL. Nos bovinos, esta molécula está indicada para tratamento de piómetra, endometrite crónica, sincronização deaios, tratamento deaios silenciosos em animais com CL, indução do parto e no aborto (Plumb, 2005). As prostaglandinas, principalmente a PGF_{2α}, estão reportadas como estando presentes em praticamente todos os tecidos do organismo e por conduzirem à lise do CL, em praticamente todas as espécies de mamíferos já estudadas até à data, assim como uma grande capacidade de mobilidade entre a veia uterina e a artéria ovárica. Acredita-se, também, que as prostaglandinas (PGE's e PGF's) possam estar envolvidas no processo de ovulação e transporte de gâmetas (extraído do boletim informativo da especialidade farmacêutica Dinolytic[®], 2010). Nos bovinos, está provado que o tempo de semi-vida desta molécula é de apenas alguns minutos (Plumb, 2005).

No presente trabalho, administrou-se uma única injeção no intervalo entre as 0-12h PP, de 5 mL por animal por via intramuscular. Esta substância foi também utilizada pelo facto de não incorporar resíduos no leite, não trazendo desvantagens económicas ao produtor.

3.1.6. Detecção deaios

Como já foi dito anteriormente, a detecção deaios nesta exploração é feita por observação de sinais de cio, por parte dos funcionários, nas horas de ordenha, e também durante a restante parte do dia, com a condicionante de os animais passarem muito tempo na pastagem, longe dos olhares dos funcionários. Como tal, para tentar melhorar um pouco as condições de detecção dos sinais de cio, de forma simples e económica, marcaram-se os animais em estudo com um marcador, tipo lápis, de cor vermelha, nas zonas de inserção da cauda e dos ísquios, como representado nas seguintes imagens:

Fig. 9 – (A) Método complementar de detecção deaios implementado no ensaio clínico. Imagens obtidas pelo autor, (2011); (B) Imagem de um marcador semelhante ao utilizado no ensaio clínico.



Este procedimento teve como objectivo melhorar e facilitar a observação, por parte dos funcionários da exploração, dos animais que eventualmente pudessem estar em cio, já que um dos sinais de cio demonstrados pelos animais é o de se deixarem montar por outros animais, como referido no ponto 1.1. Contudo, pensa-se que este método não tenha tido grande eficácia pelo facto de os animais estarem muito tempo na pastagem, sujeitos às condições climáticas e, no local em questão, a precipitação acabar por diluir a tinta.

3.1.7. Análise estatística dos resultados

Durante a realização deste trabalho, todos os dados e registos recolhidos na exploração foram introduzidos numa base de dados criada no programa informático Microsoft Office Excel® (2010), que também serviu como suporte para a construção de gráficos e tabelas e para o cálculo de estatísticas descritivas (média, mediana, desvio padrão, distribuição de frequências) para as diversas variáveis. Este conjunto de registos acabou por servir como base de dados final para o trabalho experimental.

Foram analisadas e trabalhadas as associações entre as variáveis “Tratamento” x “Diagnóstico de Gestação” para o total dos animais, assim como para os sub-grupos “Primíparas” e “Multíparas” pelo Teste exacto de Fisher bilateral. Comparou-se a diferença entre os grupos “Tratado” e “Não tratado” no que diz respeito às variáveis intervalo parto-1ªIA e intervalo parto-IA fecundante, pelo teste Mann-Whitney U. Estes testes foram executados com o programa PASW Statistics 18 da IBM® (2009).

O teste exacto de Fisher bilateral foi utilizado devido ao facto da amostra ser pequena e não reunir todos os pressupostos necessários à realização do Teste Qui-quadrado. O teste exacto de Fisher permite realizar o estudo estatístico em amostras pequenas com maior precisão do que o teste de qui-quadrado.

4. Resultados

4.1. Relação entre o intervalo parto - 1ª IA e parto - IA fecundante e animais tratados e não tratados

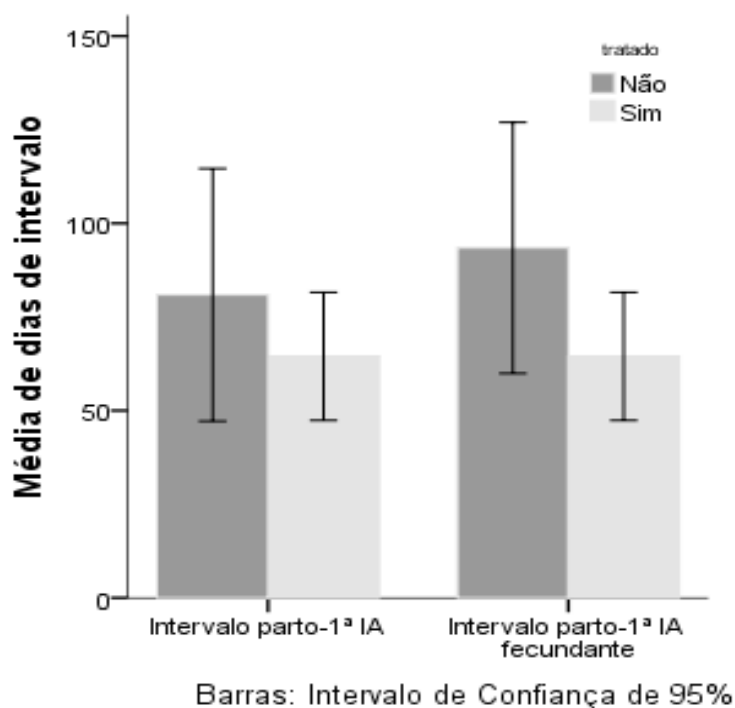
Esta análise teve como base a avaliação do intervalo entre o parto e a 1ª IA e do intervalo parto-IA fecundante, em fêmeas que foram sujeitas a tratamento ou não. Através da análise descritiva dos dados trabalhados observou-se que, em média, o número de dias entre o parto e a 1ª IA foi menor nos animais tratados (64,3 dias), relativamente aos animais não tratados (73,9 dias). O mesmo se verificou com o número médio de dias entre o parto e a IA fecundante, tendo sido registados valores médios de 64,5 dias para animais tratados e de 93,4 dias para animais não tratados. Contudo, a análise estatística das diferenças entre os grupos “Tratado” e “Não tratado”, pelo teste Mann-Whitney U, não evidenciou diferenças significativas ($p > 0,05$) para os intervalos parto-1ªIA e parto-IA fecundante.

Quanto ao desvio padrão, obtiveram-se novamente valores mais baixos para os animais que foram sujeitos ao tratamento relativamente aos que não foram. Isto significa que os resultados registados pelos animais tratados foram mais consistentes, contrariamente aos animais não tratados, onde houve uma maior variação, como se pode observar na tabela 5.

Tabela 5 – Apresentação do número máximo, mínimo, médio de dias, o desvio padrão e a mediana, entre o parto - 1ª IA e entre o parto-IA fecundante, em animais tratados e não tratados.

Tratada ou não		N	Mínimo	Máximo	Mediana	Média	Desvio Padrão
Não	Intervalo Parto-1ªIA (dias)	17	20	162	64,0	73,9	36,8
	Intervalo Parto-IA fecundante (dias)	9	43	162	89,0	93,4	43,6
Sim	Intervalo Parto-1ªIA (dias)	10	44	99	56,5	64,3	19,0
	Intervalo Parto-IA fecundante (dias)	8	44	99	56,5	64,5	20,4

Gráfico 1. Representação gráfica da média (em dias) para os intervalos parto-1ªIA e parto-IA fecundante em animais tratados e não tratados, com um intervalo de confiança de 95%.



O gráfico 1 ilustra a média de dias de intervalo parto-1ªIA e parto-IA fecundante para animais tratados e não tratados, verificando-se valores inferiores para animais tratados, relativamente a não tratados. Adicionalmente, no gráfico estão representados os intervalos de confiança de 95%. No gráfico 1 pode observar-se grande sobreposição de valores nomeadamente, pela dimensão das barras do intervalo de confiança, registo consistente com a inexistência de diferenças significativas entre animais dos grupos “Tratados” e “Não tratados”.

4.2. Resultado do diagnóstico de gestação em animais com apenas uma lactação, tratados e não tratados

Pela análise da tabela 6 pode constatar-se que das 3 fêmeas primíparas que foram sujeitos ao tratamento, apenas 1 ficou gestante. No entanto, nos animais não tratados, dum total de 4 fêmeas, 3 ficaram gestantes e apenas 1 teve diagnóstico de gestação negativo.

Ainda assim, os animais com apenas uma lactação, pelo facto de se tratar de uma população muito pequena, o resultado da análise estatística pelo Teste exacto de Fisher bilateral não evidenciou diferenças significativas ($p=0,486$, com 1 grau de liberdade) entre os grupos “Tratados” e “Não tratados”.

Tabela 6. Resultados do diagnóstico de gestação em vacas primíparas, tratadas e não tratadas.

Primíparas x Tratamento	Diagnóstico Gestação		
	G Nº (%)	NG Nº (%)	Total Nº
Sim	1 (33%)	2 (67%)	3
Não	3 (75%)	1 (25%)	4
Total	4 (57%)	3 (43%)	7

4.3. Resultado do diagnóstico de gestação em animais com mais do que uma lactação, tratados e não tratados

Na tabela 7, são apresentados os resultados do diagnóstico de gestação em vacas múltíparas, tratadas e não tratadas. Neste caso, nos 7 animais tratados, 86% tiveram diagnóstico de gestação positivo, enquanto apenas 14% revelaram diagnóstico de gestação negativo. Já nas fêmeas que não foram sujeitas a tratamento, dos 13 animais estudados, 54% não ficaram gestantes.

Após a análise dos dados pelo Teste exacto de Fisher bilateral, concluiu-se que os resultados obtidos não evidenciam diferenças significativas ($p=0,158$, com 1 grau de liberdade) que permitam afirmar que este tratamento em animais com mais do que uma lactação poderia conduzir a melhores resultados na taxa de concepção.

Tabela 7. Resultados do diagnóstico de gestação em vacas múltíparas, tratadas e não tratadas

Múltíparas x Tratamento	Diagnóstico Gestação		
	Gestante Nº (%)	Não Gestante Nº (%)	Total Nº
Sim	6 (86%)	1 (14%)	7
Não	6 (46%)	7 (54%)	13
Total Geral	12 (60%)	8 (40%)	20

4.4. Relação entre o diagnóstico de gestação e os animais tratados e não tratados

Na tabela 8 apresenta-se a relação entre animais com e sem tratamento, e o resultado do diagnóstico de gestação. Utilizando o Teste exacto de Fisher bilateral, verificou-se que, devido ao tamanho da amostra ser reduzido e apesar de haver 70% de animais tratados e gestantes, comparativamente a 53% dos não tratados, os dados não evidenciaram diferenças significativas ($p=0,488$, para 1 grau de liberdade), não permitindo afirmar que os melhores resultados obtidos com os animais sujeitos ao tratamento, se deveram a uma situação casual ou não, ou se se poderia extrapolar estes resultados para a restante população.

Tabela 8. Relação entre o diagnóstico de gestação e animais tratados e não tratados

		Diagnóstico de Gestação		Total Nº
		Gestante	Não Gestante	
		Nº (%)	Nº (%)	
Tratada ou não	Não	9 (53)	8 (47)	17
	Sim	7 (70)	3 (30)	10
Total		16 (59)	11 (41)	27

4.5. Relação entre o número de serviços realizados em animais tratados e não tratados e o diagnóstico de gestação

Nesta análise, relacionou-se o número de serviços por animal, tratados e não tratados e o posterior diagnóstico de gestação. Todos os animais foram servidos por IA.

Tabela 9. Valores percentuais e numéricos da distribuição de resultados do número de serviços/animal, tratado ou não, e o resultado dos respectivos diagnósticos de gestação.

Nº serviços/animal x tratamento		Diagnóstico de gestação		
		Gestante	Não Gestante	Total
		Nº (%)	Nº (%)	Nº (%)
Não tratados		9 (33)	8 (30)	17 (63)
	1 Serviços	6 (22)		6 (22)
	2 Serviços	2 (7)	3 (11)	5 (19)
	3 Serviços	1 (4)	3 (11)	4 (15)
	4 Serviços		2 (7)	2 (7)
Tratados		7 (26)	3 (11)	10 (37)
	1 Serviços	7 (26)		7 (26)
	2 Serviços		2 (7)	2 (7)
	3 Serviços		1 (4)	1 (4)
Total		16 (59)	11 (41)	27 (100)

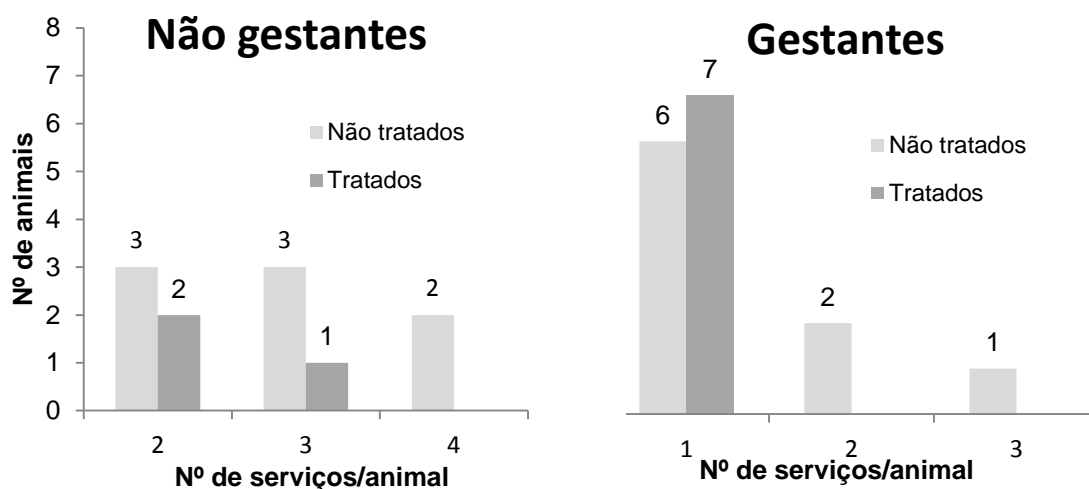
A tabela 9 apresenta os resultados da relação entre as variáveis sob a forma numérica e percentual.

Para uma melhor análise do gráfico 2 abaixo apresentado, dividiram-se os animais em dois grupos, “Não gestantes” e “Gestantes”, estando os resultados distribuídos por dois sub-grupos, “Tratados” e “Não tratados”.

Assim, no grupo das fêmeas que não ficaram gestantes, num total de 8 animais não tratados, 3 precisaram de 2 serviços, outros 3 precisaram, também de 3 serviços, enquanto os 2 últimos precisaram de 4 serviços. Os animais que foram tratados mas que não ficarem gestantes, 2 precisaram de 2 serviços, e apenas um precisou de 3 serviços.

Relativamente ao grupo de animais que ficaram gestantes, todos aqueles que foram tratados, necessitaram apenas de um serviço. Já os animais não tratados, uma grande maioria, 6 animais num total de 9, ficaram gestantes com um serviço, enquanto outros 2 precisaram de 2 serviços e apenas 1 precisou de 3 serviços.

Gráfico 2. Número de serviços realizados em animais tratados e não tratados, gestantes e não gestantes.



Relativamente aos animais que não ficaram gestantes, até à data do final da recolha de dados, era este o panorama no que se refere a serviços por animal, e como não foi possível precisar o que realmente aconteceu a alguns desses animais, se necessitaram de mais serviços ou se ficaram gestantes, os cálculos apresentados a cima, foram feitos com os resultados registados até ao último dia de recolha de dados.

4.6. Índice de concepção

De acordo com o que foi referido na revisão bibliográfica (ponto 3.1), o índice de concepção define-se como sendo o número de serviços realizados num determinado grupo de fêmeas (primíparas e múltiparas), durante um determinado período de tempo, e que resultaram num diagnóstico de gestação positivo, realizado nunca antes dos 42 dias após beneficiação.

Como tal, este índice calcula-se através da seguinte fórmula:

$$\text{Índice de concepção} = \frac{n^{\circ} \text{ de animais gestantes}}{n^{\circ} \text{ total de serviços (cobrição ou IA)}}$$

De forma a percebermos quais as diferenças no índice de concepção nos animais tratados e não tratados, calculou-se este índice para os dois grupos, estando os resultados apresentados na tabela 10.

Tabela 10. Resultado do índice de concepção para os dois grupos em estudo.

	Grupo tratado	Grupo não tratado	Total Amostra
Índice de concepção (%)	63,4	32,1	42,1

Após a análise destes resultados pelo Teste exacto de Fisher bilateral, não se verificaram diferenças significativas ($p=0,146$) entre estes dois resultados. Deste modo, não há a certeza de que estes valores não podem ser atribuídos a um acaso.

4.7. Taxa de gestação ao primeiro serviço

A taxa de gestação ao primeiro serviço, como descrito na revisão bibliográfica (ponto 3.1.), calcula-se da mesma forma que o índice de concepção, com a diferença de apenas serem utilizados os animais que ficaram gestantes ao primeiro serviço. Desta forma, a fórmula de cálculo é:

$$\text{Taxa de gestação ao 1}^{\circ} \text{ serviço} = \frac{n^{\circ} \text{ de animais gestantes}}{n^{\circ} \text{ de animais servidos apenas 1 vez}}$$

Na tabela 11, encontram-se os resultados para os diferentes grupos de animais em estudo, assim como do total da amostra.

Tabela 11. Resultado para a taxa de gestação ao primeiro serviço para os dois grupos em estudo.

	Grupo tratado	Grupo não tratado	Total Amostra
Taxa de gestação ao primeiro serviço (%)	78	67	75

Novamente, após a análise estatística dos resultados pelo Teste exacto de Fisher bilateral, não se encontraram diferenças significativas ($p=1$), muito pelo facto de a amostra ser extremamente reduzida.

4.8. Eficiência na detecção de cios

4.8.1. Percentagem de animais não gestantes ao diagnóstico de gestação

A percentagem de animais gestantes ao diagnóstico de gestação, por palpação rectal, é um bom indicador da eficiência da detecção de cios. Nesta exploração, a percentagem de fêmeas não gestantes rondou os 41%, como se regista na tabela 12. Sempre que esta percentagem ultrapassa os 15%, a eficácia de detecção de cios é baixa e anti-económica.

Tabela 12. Percentagem de animais gestantes e não gestantes ao diagnóstico de gestação.

Diagnóstico de Gestação	Percentagem de animais gestantes ao exame palpação rectal
G	59%
NG	41%
Total	100,00%

4.8.2. Cálculo da eficácia da detecção de cios

Para calcularmos a eficácia da detecção de cios é necessário o recurso a diversas variáveis (a, b, c, d, e), de acordo com o que está descrito no ponto 3.1. da revisão bibliográfica, que correspondem a diferentes intervalos entre estros ou entres IA's. Assim sendo, a fórmula que permitiu calcular o valor que representa a eficácia da detecção de cios é:

$$EDC = \frac{b + c}{a + b + c + 2(d + e)} \times 100$$

Deste modo, o valor da EDC para a exploração em estudo foi de 14,3%, quando deveria ser superior a 50%.

5. Discussão

Antes de se proceder à discussão dos resultados apresentados anteriormente, é importante referir que todos os animais em estudo se encontravam na mesma situação de manejo, quer alimentar, quer reprodutivo e, que durante o estudo, um dos aspectos em análise seria o desenvolvimento de doenças PP, o que acabou por não se verificar, com excepção de um animal com prolapso uterino que acabou por ser abatido em matadouro, não sendo incluído nos resultados. Apesar de ser uma amostra pequena, o facto de não terem sido registados animais com doenças PP pode estar associado a um possível sucesso do tratamento realizado. Num trabalho realizado por Dubuc, Duffiels, Leslie, Walton & LeBlanc (2011), a aplicação de ceftiofur logo após o parto, em animais com elevado risco de desenvolvimento de metrite, particularmente aqueles que pariram gémeos, tiveram partos distócicos, mas não com retenção placentária, reduziu consideravelmente a incidência de metrites puerperais e a prevalência de descargas vaginais purulentas até 35 dias PP. Estes resultados suportam o conceito de que a diminuição da carga bacteriana contaminante do útero no início do PP, previne infecções uterinas subsequentes. Nesse mesmo trabalho administrou-se PGF_{2α} nos dias 35 e 49 PP, não se verificando efeitos significativos na saúde uterina, nem na “performance” reprodutiva (Dubuc *et al.*, 2011).

Relativamente aos resultados do presente estudo experimental, estatisticamente, acabaram por não ser totalmente conclusivos, principalmente pelo facto de a amostra ser muito reduzida. Uma justificação para este facto poderá ter-se devido ao facto de na altura que se deu início ao procedimento experimental, dia 18 de Fevereiro de 2011, a maior parte dos animais já terem parido, restando um grupo de animais mais pequeno que foi o utilizado. Adicionalmente, alguns animais, por decisão do produtor, foram alvo de substituição, sendo portanto retirados do presente estudo.

Durante os trabalhos foram recolhidos dados numa outra exploração, mas por serem escassos e devido a diferenças no manejo reprodutivo, não foi possível incluí-los no presente estudo. Foi proposta a outros produtores a realização do estudo nas suas explorações, mas os mesmos não se mostraram inteiramente receptivos.

Assim sendo, o grupo de animais estudado totalizou 27 fêmeas, dentro das quais, 10 foram tratadas e 17 não tratadas, ou seja, funcionaram como grupo controlo.

No primeiro ponto de discussão abordou-se o número médio de dias dos intervalos parto-1ªIA e parto-IA fecundante em animais tratados e não tratados. No grupo dos animais tratados, o valor médio obtido (64,3 dias) foi muito semelhante ao valor considerado óptimo para o intervalo parto-1ªIA por Parkinson & Noakes (2001), para os quais é de 65 dias. Relativamente ao intervalo parto-IA fecundante, o grupo de animais tratados registou uma média 64,5 dias, cerca de 20 dias a menos do que o valor considerado óptimo por Parkinson & Noakes (2001). Uma justificação para este facto será a de que, em apenas 3 animais, a

data da primeira IA não coincidiu com a IA fecundante, logo o valor aproximou-se muito do valor médio de dias do intervalo parto-1ªIA.

No grupo de animais não tratados, o número médio de dias para o intervalo parto-1ªIA foi de 74 dias, o que se afasta cerca de 9 dias do valor óptimo (65 dias) proposto por Parkinson & Noakes (2001). Em relação ao intervalo parto-IA fecundante, o número médio de dias atingido foi 93 dias, que se afasta ainda mais do valor atingido pelo grupo dos animais tratados e do valor considerado óptimo por Parkinson & Noakes (2001), que é 85 dias. Através da análise dos desvios padrão para cada intervalo, verificou-se que entre os animais tratados e não tratados o desvio padrão, tanto para o intervalo parto-1ªIA e parto-IA fecundante, foi sempre inferior para o grupo de animais tratados, relativamente aos não tratados. Isto indica-nos que há uma menor variação de resultados no grupo de animais tratados, logo uma maior consistência nos dados. Assim, parece haver alguma evidência de que o tratamento possa ter sido eficaz, sendo que os animais tratados apresentaram um menor número de dias relativamente aos dois intervalos em questão contrariamente ao que foi evidenciado pelas fêmeas não tratadas. No entanto, após a análise estatística dos resultados, nomeadamente pela análise das medianas para os intervalos referidos, pelo Teste de Mann-Whitney U, não se verificaram diferenças significativas ($p>0,05$), o que quer dizer que não podemos afirmar que os resultados obtidos não foram atribuídos ao acaso.

Em relação ao resultado do diagnóstico de gestação em vacas primíparas, sujeitas ou não ao tratamento, por ser um grupo com um número reduzido de animais, pouco se conseguiu concluir. Estatisticamente não foi possível encontrar resultados significativamente melhores ou piores e, mesmo analisando a tabela 6, a distribuição de valores é tão homogênea, que não nos permite retirar nenhuma conclusão sobre a representatividade dos resultados daquela amostra para a restante população.

Quanto aos resultados do diagnóstico de gestação em animais múltiparos, sujeitos ou não a tratamento, pela observação da tabela 7, representativa da amostra em questão ($n=20$), registaram-se melhores resultados nos animais que foram tratados, sendo que, com a excepção de apenas um animal, todos ficaram gestantes, contrariamente ao sucedido nos animais que não foram tratados. Contudo, estatisticamente também não foi possível encontrar evidência ($p>0,05$) de que as variáveis em estudo seriam dependentes, o que nos faria ter a certeza de que os resultados não seriam atribuídos ao acaso.

Relativamente ao ponto de discussão em que se relaciona os resultados do diagnóstico de gestação com os grupos de animais, “Tratado” e “Não tratado”, também não foi possível afirmar, pelo Teste exacto de Fisher bilateral, que os resultados obtidos não foram fruto do acaso ($p>0,05$). Contudo através da observação da tabela 8 podemos constatar alguma tendência para os resultados serem melhores para o grupo dos animais tratados relativamente ao dos não tratados. Isto porque, neste último grupo ($n=17$), a percentagem de animais gestantes (53%) foi praticamente igual à percentagem dos que tiveram

diagnóstico de gestação negativo (47%), enquanto no grupo de animais tratados estas percentagens já foram diferentes (animais tratados=70% e animais não tratados=30%).

Outra forma de se avaliar a eficácia do tratamento realizado foi a de determinar se entre animais tratados e não tratados havia diferença no número de IA's necessárias para que um dado animal ficasse gestante. Contudo, nem todos os animais da amostra (n=27) ficaram gestantes e, posteriormente, não houve maneira de saber se esses animais ficaram ou não gestantes. Por isso, assumiu-se que os animais em questão teriam no mínimo o número de serviços até à data final de recolha de dados (10 de Agosto de 2011). Assim sendo, depois da observação da tabela 9, no grupo dos animais que ficaram gestantes, os que foram tratados (n=7) apenas precisaram de uma IA para ficarem gestantes, em relação aos que não foram tratados (n=9), onde 6 animais precisaram de uma IA, 2 precisaram de 2 IA's e 1 precisou de 3 IA's.

Relativamente ao índice de concepção revelado pelos animais da amostra em estudo, comparando com o valor considerado óptimo por Parkinson & Noakes (2001), 58%, o valor obtido de 42,1% é inferior ao valor alvo, o que é considerado prejudicial para a exploração. Contudo, os resultados para o grupo de animais "Tratado", (63,4%) embora seja uma amostra pequena (n=10), revelaram estar acima dos valores óptimos referidos anteriormente, o que poderá estar, de alguma forma, relacionado com o tratamento realizado. Pelo contrário, no grupo de animais "Não tratado", o valor obtido (32,1%) foi, consideravelmente, mais baixo do que o valor alvo. Ainda assim, a análise estatística destes valores não evidenciaram diferenças significativas ($p>0,05$). É importante referir que este índice reprodutivo, para além de influenciado pela execução da técnica de IA, o maneo do material e sémen, a saúde e fertilidade do reprodutor e o estado nutricional do efectivo, um factor de extrema importância, é uma completa e saudável involução uterina (Parkinson & Noakes, 2001), para o que poderá ter contribuído o tratamento em estudo.

Quanto aos valores atingidos no parâmetro da taxa de gestação ao primeiro serviço, o total dos animais e os dois grupos em questão, obtiveram valores superiores aos considerados óptimos pelos autores mencionados no ponto anterior. Ainda assim, podemos verificar que o grupo "Não tratado" é aquele que tem o valor mais baixo (67%), enquanto o valor mais alto foi atingido pelo grupo "Tratado", 78%. Após a análise estatística, o que se verificou foi que não existem diferenças significativas ($p>0,05$) nos resultados obtidos.

Após a análise de todos estes pontos de discussão, parece haver alguma evidência de que o tratamento em estudo traz algumas vantagens em muitos aspectos. No entanto, e provavelmente pelo facto do grupo em estudo ser muito reduzido, estatisticamente não foram extraídas as conclusões sólidas de que os resultados obtidos não teriam sido devidos a um acaso, não podendo pois, ser extrapolados para a restante população.

Relativamente a outros estudos realizados com estas moléculas, no caso da PGF_{2α}, o assunto acaba por ser um pouco controverso, havendo alguns trabalhos onde são

evidenciadas vantagens no uso da $\text{PGF}_{2\alpha}$ (Lewis, 2004; Slama, Vaillancourt, & Goff, 1993; Melendez *et al.*, 2004; Lindell & Kindahl, 1983, citados por LeBlanc, 2008; Gajewski *et al.*, 1999), outros que não demonstraram qualquer tipo de benefício (Stevenson & Call, 1988; Armstrong *et al.*, 1989; White & Dobson, 1990; Morton *et al.*, 1992; Gay & Upham, 1994, citados por LeBlanc, 2008), havendo mesmo alguns onde esta prática conduziu a resultados desvantajosos (LeBlanc *et al.*, 2002b; Dubuc *et al.*, 2011).

Há muitos anos que na Ilha de São Miguel se utiliza a $\text{PGF}_{2\alpha}$ no período PP de bovinos leiteiros, quer na terapêutica de doenças do útero, quer na sincronização de cios, principalmente por ser um fármaco de fácil acesso, baixo custo e sem o perigo de incorporar resíduos no leite. Contudo, não há consenso quanto ao seu uso. Muitos autores, como Smith & Risco (2002) e Frazer (2001), citados por Palmer (2003); Gilbert & Schwark (1992), citados por LeBlanc (2008), defendem que a acção da $\text{PGF}_{2\alpha}$ no PP só tem a ver com a sua capacidade luteolítica. E, portanto, só actua na presença de um CL funcional, ou seja, após os 17-24 dias PP, aproximadamente (Savio *et al.*, 1990; Garcia & Larsson, 1982; e Sharp & King, 1981, citados por Hendricks *et al.*, 2006). Assim sendo e, segundo Lewis (2004) e Hendricks *et al.* (2006), após a luteólise, as concentrações de P_4 descem para valores basais, suprimindo-se o efeito imunossupressor desta hormona no útero, dando-se então uma involução uterina mais rápida. Contudo, segundo Lewis (2004), para além da acção luteolítica, esta prostaglandina tem acções pró-inflamatórias, podendo influenciar positivamente a função dos neutrófilos e, de acordo com Slama, Vaillancourt & Goff (1993), melhorando a involução uterina e reduzindo o risco de infecção do útero. Segundo Galvão (2011), esta prostaglandina poderá ser um substituto do antibiótico em casos onde se verificam resistências bacterianas. De acordo com Gustafsson *et al.* (2004), a involução uterina e a depuração das bactérias presentes no útero estão directamente associadas à $\text{PGF}_{2\alpha}$, e quanto maior for a concentração de PGFM no plasma, mais rápida será a involução uterina, o que segundo Nakao *et al.* (1997), e Hirsbrunner *et al.* (2003), citados por Sheldon *et al.* (2006), também para isso contribuiria, para além da acção pró-inflamatória, para um aumento da motilidade e contractilidade uterinas. Em relação à capacidade de aumentar a contracção miometrial, de acordo com um estudo realizado por Gajewski *et al.* (1999), a actividade mioelétrica do útero esteve aumentada durante os primeiros 14 dias PP. Em contraste, em estudos realizados por Eiler *et al.* (1984) e por Burton *et al.* (1987), citados por Melendez *et al.* (2004), não se verificou aumento da actividade miometrial, nos primeiros 4 dias PP.

Muitos trabalhos foram também realizados no âmbito da avaliação da eficácia terapêutica desta prostaglandina em doenças uterinas no PP. No entanto, também nesta área, os resultados obtidos mostraram-se contraditórios. É o exemplo de LeBlanc *et al.* (2002b), que realizaram um estudo onde aplicava a $\text{PGF}_{2\alpha}$ nos dias 20 e 30 PP em animais com endometrite clínica e, concluíram que esta medida, quando aplicada em animais sem CL

detectável, poderá ter conduzido a uma significativa diminuição no índice de concepção. Outro exemplo é o do estudo realizado por Melendez *et al.* (2004), em que a aplicação de duas doses luteolíticas de PGF_{2α} com 8h de intervalo, até aos 8 dias PP, aumentou consideravelmente a taxa de gestação ao primeiro serviço em animais com metrites puerperais. Já Lindell & Kindahl (1983), citados por LeBlanc (2008) e Melendez *et al.* (2004), realizaram um estudo onde concluíram que a administração de PGF_{2α}, duas vezes por dia, durante o início do PP diminuía o tempo necessário para a involução uterina em vacas saudáveis, em cerca de 1 semana. Ainda, vários estudos realizados por diversos autores, demonstraram haver benefícios na aplicação de PGF_{2α} como tratamento de rotina em todos os animais, ou apenas em animais saudáveis no período PP (Etherington *et al.*, 1984; Young *et al.*, 1984; Young & Anderson, 1986; Etherington *et al.*, 1988; McClary *et al.*, 1989; Etherington *et al.*, 1994, citados por LeBlanc, 2008), enquanto muitos outros demonstraram não haver nenhuma vantagem nesta medida (Stevenson & Call, 1988; Armstrong *et al.*, 1989; White & Dobson, 1990; Morton *et al.*, 1992; Gay & Upham, 1994, citados por LeBlanc, 2008).

Deste modo, muito se tem feito e escrito sobre a eficácia terapêutica e profilática da PGF_{2α}, no período PP de bovinos leiteiros, não havendo, ainda hoje, nenhum consenso entre os vários autores sobre o verdadeiro mecanismo de acção desta molécula. Neste trabalho, embora sem certeza estatística, os resultados obtidos corroboram alguns dos trabalhos já realizados, que tiveram bons resultados com a sua administração num período de inexistência de um CL funcional. Contudo, nada se pode afirmar sobre o seu verdadeiro efeito.

Quanto à cefalosporina utilizada, ceftiofur, está demonstrado que é um antibiótico de primeira escolha pelas suas qualidades terapêuticas e preventivas relativamente a casos de metrites puerperais (Risco & Hernandez, 2003), e também pela redução de descargas vaginais purulentas no PP (Dubuc *et al.*, 2011). Como já foi referido, um dos pontos de análise neste trabalho seria também, o desenvolvimento de doenças infecciosas características deste período, em animais tratados e não tratados. Alguns trabalhos já realizados, como os de Zhou *et al.* (2001) e Chenault *et al.* (2004), citados por Drillich *et al.* (2006b), e de Koivisto, Bresciant, Martineli, Perri, Scarpelli & Esper (2004), demonstraram uma grande eficácia do ceftiofur na diminuição e estabilização de temperatura em animais febris, no período PP. No entanto, num trabalho realizado por Drillich *et al.* (2006b), onde se compararam duas estratégias de tratamento de animais com RP utilizando o ceftiofur (1 mg/Kg de Peso Vivo (PV), via subcutânea durante 3 dias consecutivos), uma delas preventiva e outra selectiva, conclui-se que a proporção de animais febris não foi reduzida no grupo onde se realizou o tratamento preventivo, em contraste com o que aconteceu num estudo realizado por Risco & Hernandez (2003), em que animais com RP e tratados preventivamente com ceftiofur (2,2 mg/Kg PV, via intramuscular durante 5 dias

consecutivos) tiveram uma significativa redução do desenvolvimento de metrite puerperal, relativamente ao grupo de animais não tratado. Drillich *et al.* (2006b) justificaram estes resultados com a possibilidade de a dose administrada no seu estudo ser insuficiente. No entanto, afirmaram terem-se baseado num estudo realizado por Okker *et al.* (2002), citado por Drillich *et al.* (2006b), que demonstrou que a administração de 1 mg/Kg PV resultava em concentrações de ceftiofur, nos tecidos, que excediam a concentração mínima inibitória para as principais bactérias causadores de infecções uterinas. No presente estudo, foi administrada uma dose única de 6,6 mg/Kg de PV, por via subcutânea, uma dose consideravelmente superior à utilizada por Drillich *et al.* (2006b).

No que se refere à possível influência do ceftiofur na “performance” reprodutiva de vacas leiteiras, de acordo com os trabalhos realizados por Drillich *et al.* (2006b) e Risco & Hernandez (2003), nos dois casos, não se obtiveram benefícios substanciais entre animais tratados com este antibiótico, relativamente aos não tratados.

Abaixo, e como forma de síntese, apresenta-se uma tabela com os resultados dos índices estudados neste trabalho, para os grupos “Tratado” e “Não Tratado”.

Tabela 13. Representação em forma de tabela dos índices reprodutivos calculados para os grupos “Tratado” e “Não Tratado”, assim como o intervalo alvo a atingir.

Índices reprodutivos	Intervalo alvo	Grupo “Tratado”	Grupo “Não Tratado”
Intervalo parto - 1ª IA (dias)	60-70	64	74
Intervalo parto - IA fecundante (dias)	85-115	64	93
Índice de concepção (%)	45-55	63	32
Taxa de gestação à 1ª IA (%)	50-60	78	67

Embora na tabela 13 não estejam incluídos todos os índices reprodutivos e pontos de discussão e, embora os resultados obtidos, para uma amostra muito pequena, não tenham revelado poder estatístico suficiente para afirmar que os mesmos não foram fruto do acaso, o que é facto é que através da sua análise directa, há efectivamente uma melhoria no grupo de animais sujeitos ao tratamento, contrariamente aos não tratados. Desta forma, a administração das duas moléculas em estudo poderá estar na base dos melhores resultados atingidos pelos animais tratados, possivelmente pelas características antimicrobianas já reconhecidas ao ceftiofur e pela actividade pró-inflamatória e contráctil da PGF_{2α} num útero sem estar sob acção da progesterona, permitindo dar-se início a uma involução uterina mais rápida e eficaz, impedindo-se o desenvolvimento bacteriano, característico do período PP e, consequentemente, de doenças infecciosas, proporcionando-se melhores condições uterinas para a nova gestação.

Todavia, durante a realização deste trabalho e após extensa revisão bibliográfica, chegou-se à conclusão de que o estudo experimental foi construído sobre algumas bases menos sólidas: primeiro, pelo facto da administração das duas moléculas ter sido feito em simultâneo, não permitindo perceber se o efeito deste tratamento, se atribui à acção da hormona, ou à do antibiótico, ou ainda da aplicação conjunta; e segundo, pelo facto de a grande maioria dos autores defender a aplicação da $\text{PGF}_{2\alpha}$ após o dia 17 PP, por haver algumas dúvidas na acção desta molécula sobre a involução uterina para além da luteólise, questão esta, que continua a ser um pouco controversa. O ideal teria sido proceder à administração das duas substâncias em separado, havendo mesmo um grupo onde a aplicação fosse conjunta. No entanto, para que isso fosse possível, seria necessário um período de recolha de dados mais extenso, de uma amostra maior, o que na região onde foi realizado o trabalho é difícil devido ao reduzido número de animais por exploração (cerca de 60-70 animais por exploração, em média), assim como maiores recursos financeiros para adquirir uma maior quantidade dos produtos farmacêuticos das moléculas em estudo. Todavia, não está excluída a continuação deste trabalho, na exploração em questão, até pelo facto de o proprietário, sendo um médico veterinário, ter-se mostrado entusiasmado e com intenção de chegar a conclusões mais precisas.

Para além do objectivo principal do presente estudo ser a avaliação da influência da administração conjunta do ceftiofur e da $\text{PGF}_{2\alpha}$ sobre os índices reprodutivos de um efectivo de bovinos leiteiros da raça Holstein-Frísia, a identificação de algumas causas mais relevantes para a baixa fertilidade que se tem vindo a registar ultimamente em São Miguel, foi outro dos objectivos. Como tal, calcularam-se dois parâmetros que permitem ter uma ideia da eficiência de detecção de cios na exploração em estudo, pois tal como foi referido por Parkinson & Noakes (2001), a eficácia na detecção de cios numa exploração é um aspecto vital para o manejo reprodutivo desta, porque se uma boa detecção de cios pode não garantir uma boa “performance” reprodutiva, uma má detecção de cios torna aquela situação inevitável.

Assim sendo, depois de calculada a percentagem de animais não gestantes ao diagnóstico de gestação que foi de 41%; a partir dos 15%, a eficácia de detecção de cios é considerada baixa e anti-económica e, depois de calculada a eficiência da detecção de cios, que resultou num valor que ronda os 14%, quando o valor a partir do qual é considerada boa é de 50%, conclui-se que a exploração em questão tem algumas deficiências no método de detecção de cios. Este facto pode dever-se ao facto de as instalações não serem as mais apropriadas para a quantidade de animais em lactação, pois num sistema em que a detecção de cios decorre da observação de sinais deste pelos trabalhadores, actividade que acontece com maior relevo na altura da ordenha, os animais deveriam estar num pátio grande e com um piso adequado, situação que, nesta exploração, ainda não é possível. Para além disto, não há nenhum meio complementar de detecção de cios. É de salientar que houve uma tentativa

de auxiliar na tarefa de detecção de cios, pintando a base da cauda e os ísquios com um marcador de cor vermelha, que acabou por não ser eficaz, muito pelas condições climatéricas do local.

Deste modo, e assumindo que algo semelhante ocorre na maior parte das explorações de aptidão leiteira de São Miguel e, de acordo com o que foi descrito no ponto 3.2. da revisão bibliográfica sobre esta matéria, este facto poderá ser uma das principais causas para a diminuição global da fertilidade, na ilha de São Miguel.

Relativamente à componente económica deste estudo, e para além de haver muitos mais custos do que aqueles que serão abordados a seguir, achou-se que a melhor forma de comparação seria entre o preço do tratamento realizado no presente estudo (Naxcel® + Dinolytic®) por animal, e o preço de leite produzido por dia pago ao produtor, calculando-se a diferença entre os grupos pela diferença do número de dias em aberto registados nos dois grupos. Deste modo, na tabela 14 apresentam-se os dados que serão avaliados nesta componente do estudo.

Tabela 14. Referência aos preços por dose de produto farmacêutico utilizado no estudo, por 1L de leite produzido na exploração, assim como a produção leiteira média por animal

	Dose Naxcel®	Dose Dinolytic®	Preço 1L de leite	Produção leiteira média/animal
Preço	18,20€	5,25€	31 Cêntimos	28L

Deste modo, a diferença do número de dias em aberto entre os animais tratados e não tratados, obtida pela diferença entre os valores médios atingidos pelos animais no intervalo parto-IA fecundante, foi de 29 dias (93,4 dias – 64,5 dias), sendo os melhores resultados (64,5 dias) registados no grupo dos animais tratados. Como tal, o custo total deste tratamento, por animal, foi de 23,50€ (18,2€ + 5,25€). Por dia, uma vaca rendeu em média à exploração cerca de 8,70€ (28L x 31 cêntimos) em leite produzido. Ao multiplicarmos esse valor pela diferença de 29 dias em aberto entre animais tratados e não tratados, obteve-se ganho total de 252,30€ em leite por animal tratado.

Desta forma, e se realmente os resultados obtidos neste trabalho pudessem ser extrapolados para todo o efectivo em produção e não houvesse dúvidas quanto à eficiência do tratamento realizado, este procedimento seria mais que proveitoso economicamente, visto o preço dos fármacos ser bastante inferior aquilo que o produtor ganha em dias de produção por vaca tratada.

É importante referir que estes preços dizem respeito à exploração em questão e os preços dos produtos farmacêuticos foram os praticados pela farmácia da Cooperativa União Agrícola, e o preço do litro de leite pago a este produtor foi estabelecido pela sua unidade de recolha de leite.

6. Conclusão

Em suma, depois da análise e discussão de todos os pontos de avaliação que foram introduzidos neste trabalho, estatisticamente, nada se pôde concluir acerca da influência da administração conjunta de uma Cefalosporina de 3ª geração, ceftiofur, e de uma prostaglandina, PGF_{2α}, nos índices reprodutivos de um efectivo de vacas de aptidão leiteira da raça Holstein-Frísia, muito possivelmente, pelo facto de a amostra ser muito reduzida, o que não invalida poderem retirar-se algumas conclusões quanto aos aparentes melhores resultados registados com os animais tratados:

- Intervalo parto-1ªIA e Intervalo parto-IA fecundante – obteve-se uma diminuição, importante do número de dias no grupo de animais “Tratados” relativamente ao “Não Tratados”;
- Diagnóstico de gestação vs tratamento – nos animais sujeitos a tratamento, o número de diagnósticos positivos foi superior ao verificado no grupo de animais não tratados;
- Índice de concepção vs tratamento – neste ponto também houve um melhor resultado no grupo de animais “Tratados”;
- Taxa de gestação ao primeiro serviço vs tratamento – também nesta análise, os valores atingidos pelo grupo de vacas sujeitas a tratamento foram muito superiores aos registados com o grupo controlo, verificando-se mesmo, uma superioridade relativamente aos valores alvo descritos na bibliografia;
- Número de serviços necessários a um diagnóstico de gestação positivo vs tratamento – embora com um grupo amostral muito reduzido, foi possível aperceber-se de uma tendência de os animais “Tratados” necessitarem de um menor número de serviços para ficarem gestantes;
- Relativamente à sub-divisão dos grupos em fêmeas primíparas e múltiparas, o primeiro grupo por ter uma amostra muito pequena, nada se pôde concluir. Já em relação ao segundo grupo, registaram-se resultados de diagnóstico de gestação muito próximos entre os grupos “Tratados” e “Não Tratados”, com o primeiro grupo a ser ligeiramente melhor;
- No que respeita à eficiência na detecção de cios da exploração em estudo, nos dois parâmetros avaliados, os resultados foram inferiores aos valores alvo referidos na bibliografia. Este facto permite concluir que ainda muito tem que ser feito no sentido de melhorar as condições da exploração que podem afectar a fertilidade pois, cada vez mais, o manejo e controlo da fertilidade numa exploração leiteira são fundamentais para o bom funcionamento e gestão económica favorável da mesma;
- No que diz respeito ao último item dos objectivos, onde se pretendeu analisar se a aplicação desta medida preventiva, de forma sistemática em todos os animais, traria

benefícios económicos para a exploração em questão, concluiu-se que, caso os resultados obtidos pudessem com toda a certeza ser atribuídos ao tratamento em estudo, esta medida seria economicamente benéfica para o produtor.

Contudo, e como não foram evidenciadas certezas com bases estatísticas, não se pode afirmar que as melhorias registadas possam ser atribuídas à terapêutica instituída. Fica então, a intenção, de realizar um novo estudo com um desenho experimental mais sólido, para que, então, os resultados permitam retirar conclusões mais claras e concisas que sirvam as comunidades científica e empresarial.

IV. Bibliografia

- Adams, G. P., Jaiswal, R., Singh, J., & Malhi, P. (2008). Progress in understanding ovarian follicular dynamics in cattle. *Theriogenology*, 72-80.
- Adams, G. P., Matteri, R. L., Kastelic, J. P., Ko, J. C., & Ginther, O. J. (1992). Association Between Surges of Follicle-Stimulating Hormone and the Emergence of Follicular Waves in Heifers. *Journal of Reproduction in Fertility*, 177-188.
- Alila, H. W., & Hansel, W. (1984). Origin of Different Cell Types in The Bovine Corpus Luteum as Characterized by Specific Monoclonal Antibodies. *Biology of Reproduction*, 1015-1025.
- Archbald, L. F., Bartolome, J. A., Melendez, P., & Risco, C. A. (2006). Use of a Prostaglandin (F2 α) for Treatment of Uterine Infection . Western Veterinary Conference, the 78th Anual. Las Vegas, Nevada.
- Austin, E. J., Mihm, M., Evans, A. C., Knight, P. G., Ireland, J. L., Ireland, J. J., et al. (2001). Alterations in Intrafollicular Regulatory Factors and Apoptosis During Selection of Follicles in the First Follicular Wave of the Bovine Estrous Cycle. *Biology of Reproduction*, 839-848.
- Ball, P. J., & Peters, A. R. (2004a). The Ovarian Cycle. In P. J. Ball, & A. R. Peters, *Reproduction in Cattle*, Third Edition (pp. 44-54). Oxford, United Kingdom: Blackwell Publishing.
- Ball, P. H., & Peters, A. R. (2004b). The Postpartum Period. In P. H. Ball, & A. R. Peters, *Reproduction in Cattle* (pp. 79-91). Oxford, United Kingdom: Blackwell Publishing.
- Ball, P. H., & Peters, A. R. (2004c). Reproductive Management. In P. H. Ball, & A. R. Peters, *Reproduction in Cattle*, Third Edition (pp. 215-230). Oxford, United Kingdom: Blackwell Publishing.
- Ball, P. J., & Peters, A. R. (2004d). Oestrus Behaviour and Its Detection. In P. J. Ball, & A. R. Peters, *Reproduction in Cattle*, Third Edition (pp. 92-109). Oxford, United Kingdom: Blackwell Publishing.
- Beagley, J. C., Whitman, K. J., Baptiste, K. E., & Scherzer, J. (2010). Physiology and Treatment of Retained Fetal Membranes in Cattle. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 261-268.
- Benzaquen, M. E., Risco, C. A., Archbald, L. F., Melendez, P., Thatcher, M. J., & Thatcher, W. W. (2007). Rectal Temperature, Calving-Related Factors, and the Incidence of Puerperal Metritis in Postpartum Dairy Cows. *Journal of Dairy Science*, 2804-2814.
- Bondurant, R. H. (1999). Inflammation in the Bovine Female Reproductive Tract. *Journal of Animal Science*, 101-110.
- Bonnett, B. N., Martin, S. W., Gannon, V. J., Miller, R. B., & Etherington, W. G. (1991). Endometrial Biopsy in Holstein-Friesian Dairy Cows III. Bacteriological Analysis and Correlations with Histological Findings. *Canada Journal of Veterinary Research*, 168-173.

- Braun, R. K. (1986). Analysis of Reproductive Records Using DHIA Summaries and Other Monitors in Large Dairy Herds. In D. A. Morrow, Current Therapy in Theriogenology, Diagnoses, Treatment and Prevention of Reproduction Diseases in Small and Large Animals (pp. 414-418). Saunders: U.S.A.
- Butler, W. R. (2000). Nutritional interactions with reproductive performance in dairy cattle. *Animal Reproduction Science*, 449-457.
- Canfield, R. W., Sniffen, C. J., & Butler, W. R. (1990). Effects of Excess Degradable Protein on Postpartum Reproduction and Energy Balance in Dairy Cattle. *Journal of Dairy Science*, 2342-2349.
- Carreira, R. P. (2007). *Anestro Pósparto em Bovinos*. Vila Real, Portugal: Sector Editorial SDE.
- Clarke, I. J., & Smith, J. T. (2010). The Role of Kisspeptin and Gonadotrophin inhibitory Hormone (GnIH) in the Seasonality of Reproduction in Sheep. *Reproduction in Domestic Ruminants VII* (pp. 159-169). Anchorage, Alaska: Nottingham University Press.
- Davidson, J. N., & Farver, T. B. (1980). Conception Rates of Holstein Bulls for Artificial Insemination on a California Dairy. *Journal of Dairy Science*, 621-626.
- Drillich, M., Beetz, O., Pfützner, A., Sabin, M., Sabin, H. J., Kutzer, P., et al. (2001). Evaluation of a Systemic Antibiotic Treatment of Toxic Puerperal Metritis in Dairy Cows. *Journal of Dairy Science*, 2010-2017.
- Drillich, M., Mahlstedt, M., Reichert, U., Tenhagen, B. A., & Huewieser, W. (2006a). Strategies to Improve the Therapy of Retained Fetal Membranes in Dairy Cows. *Journal of Dairy Science*, 627-635.
- Drillich, M., Reichert, U., Mahlstedt, M., & Heuwieser, W. (2006b). Comparison of Two Strategies for Systemic Antibiotic Treatment of Dairy Cows with Retained Fetal Membranes: Preventive vs. Selective Treatment. *Journal of Dairy Science*, 1502-1508.
- Dubuc, J., Duffiels, T. F., Leslie, K. E., Walton, J. S., & LeBlanc, S. J. (2011). Randomized clinical trial of antibiotic and prostaglandin treatments for uterine health and reproductive performance in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 1325-1338.
- Eiler, H., & Fecteau, K. A. (2007). Retained Placenta. In R. S. Youngquist, & W. R. Threlfall, *Current Therapy in Large Animal Theriogenology*, 2nd Edition (pp. 345-355). St Louis, Missouri: Saunders, Elsevier.
- Evans, A. C., & Canty, M. J. (2004). Physiology of Follicle Development in Cattle. 23^o Congresso de Buiatria. Québec, Canada.
- Fetrow, J., Stewart, S., Eicker, S., & Rapnicki, P. (2007). Reproductive Health Programs for Dairy Herds: Analysis of Records for Assessment of Reproductive Performance. In R. S. Youngquist, & W. R. Threlfall, *Current Therapy in Large Animal Theriogenology*, second Edition (pp. 473-489). St Louis, Missouri: Saunders, Elsevier.
- Forde, N., Beltman, M. E., Lonergan, P., Diskin, M., Roche, J. F., & Crowe, M. A. (2011). Oestrous cycles in *Bos taurus* cattle. *Animal Reproduction Science*, 163-169.

- Galvão, K. N. (2011). Identifying and Treating Uterine Disease in Dairy Cows. Proceedings 47th Florida Dairy Production Conference. Gainesville, Florida.
- Gilbert, R. O., Shin, S. T., Guard, C. L., Erb, H. N., & Frajblat, M. (2005). Prevalence of endometritis and its effects on reproductive performance of dairy cows. *Theriogenology*, 1879-1888.
- Ginther, O. J. (2000). Selection of the Dominant follicle in cattle and horses. *Animal Reproduction Science*, 61-79.
- Ginther, O. J., Bergfelt, D. R., Beg, M. A., & Kot, K. (2001). Follicle Selection in Cattle: Role of Luteinizing Hormone. *Biology of Reproduction*, 197-205.
- Ginther, O. J., Bergfelt, D. R., Kulick, L. J., & Kot, K. (2000). Selection of the Dominant Follicle in Cattle: Role of Estradiol. *Biology of Reproduction*, 383-389.
- Ginther, O. J., Wiltbank, M. C., Fricke, P. M., Gibbons, J. R., & Kot, K. (1996). Selection of the Dominant Follicle in Cattle. *Biology of Reproduction*, 1187-1194.
- Gustafsson, H., Kornmatitsuk, B., Königsson, K., & Kindahl, H. (2004). Peripartum and early post partum in the cow - physiology and pathology. 23^o Congresso Mundial de Buiatria . Québec, Canada.
- Hardin, D. K. (1993). Fertility and Infertility Assessment by Review of Records. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 389-403.
- Hendricks, K. E., Bartolome, J. A., Melendez, P., Risco, C., & Archbald, L. F. (2006). Effect of repeated administration of PGF2a in the early post partum period on the prevalence of clinical endometritis and probability of pregnancy at first insemination in lactating dairy cows. *Theriogenology*, 1454-1464.
- Hillman, R., & Gilbert, R. O. (2008). Reproductive Diseases. In T. J. Divers, & S. F. Peek, *Rebhuns's Diseases of Dairy Cattle*, second edition (pp. 395-446). St. Louis, Missouri: Saunders, Elsevier.
- Hopkins, S. M. (1986). Bovine Anestrus. In D. A. Morrow, *Current Therapy in Theriogenology*, 2nd Edition (pp. 247-248). USA: Saunders.
- Jackson, P. G. (2004). Postparturient Problems in Large Animals. In P. G. Jackson, *Handbook of Veterinary Obstetrics*, Second Edition (pp. 209-231). China: Saunders, Elsevier.
- Junqueira, L. C., & Carneiro, J. (2004). Glândulas Endócrinas. In L. C. Junqueira, & J. Carneiro, *Histologia Básica 10ª Edição* (pp. 390, 391). Rio de Janeiro: Guanabara Koogan.
- Kasimanickam, R., Duffield, T. F., Foster, R. A., Gartley, C. J., Leslie, K. E., Walton, J. S., et al. (2004). Endometrial cytology and ultrasonography Endometrial cytology and ultrasonography in postpartum dairy cows. *Theriogenology*, 9-23.
- Kelly, R. W., King, A. E., & Critchley, H. O. (2001). Cytokine control in human endometrium. *Reproduction*, 3-19.
- Kelton, D. F., Lissemore, K. D., & Martin, R. E. (1998). Recommendations for Recording and Calculating the Incidence of Selected Clinical Diseases of Dairy Cattle. *Journal of Dairy Science*, 2502-2509.

- Kesner, J. S., & Convey, E. M. (1982). Interaction of Estradiol and Luteinizing Hormone Releasing Hormone on Follicle Stimulating Hormone Release in Cattle. *Jornal Of Animal Science*, 817-821.
- Koivisto, M. B., Bresciant, K. S., Martineli, T., Perri, S. V., Scarpelli, L. C., & Esper, C. R. (2004). AVALIAÇÃO DA EFICÁCIA TERAPÊUTICA DO CEFTIOFUR NO CONTROLE DA HIPERtermia, EM VACAS, NO PÓS-PARTO IMEDIATO. *ARS Veterinária*, 123-128.
- Lamothe, P., Bousquet, D., & Guay, P. (1977). Cyclic Variation of F Prostaglandins in the Uterine Fluids of the cow. *Journal of Reproduction in Fertility*, 381-382.
- LeBlanc, S. J. (2008). Postpartum Uterine Disease and Dairy Herd Reproductive Performance. *The Veterinary Journal*, 102-114.
- LeBlanc, S. J., Duffield, T. F., Leslie, K. E., Bateman, K. G., Keefe, G. P., Walton, J. S., et al. (2002a). Defining and Diagnosing Postpartum Clinical Endometritis and its Impact on Reproductive Performance in Dairy Cows. *Journal of Dairy Science*, 2223-2236.
- LeBlanc, S. J., Duffield, T. F., Leslie, K. E., Bateman, K. G., Keefe, G. P., Walton, J. S., et al. (2002b). The Effect of Treatment of Clinical Endometritis on Reproductive Performance in Dairy Cows. *Journal of Dairy Science*, 2237-2249.
- LeBlanc, S. J., Herdt, T. H., Seymour, W. M., Duffield, T. F., & Leslie, K. E. (2004). Peripartum Serum Vitamin E, Retinol, and Beta-Carotene in Dairy Cattle and Their Associations with Disease. *Journal of Dairy Science*, 609-619.
- Leslie, K. E. (1983). The Events of Normal and Anormal Postpartum Reproductive Endocrinology and Uterine Involution in Dairy Cows: A Review. *The Canadian Veterinary Journal*, 67-71.
- Lewis, G. S. (2004). Steroidal regulation of uterine immune defenses. *Animal Reproduction Science*, 281-294.
- Liebich, H. G., & Budras, K. -D. (2003). Pelvic cavity and inguinal region, including urinary and genital organs. In K. -D. Budras, & R. E. Habel, *Bovine Anatomy*, first Edition (p. 86). Hannover, Germany: Schlütersche.
- Lopez, H., Sartori, R., & Wiltbank, M. C. (2005). Reproductive Hormones and Follicular Growth During Development of One or Multiple Dominant Follicles in Cattle. *Biology of Reproduction*, 788-795.
- Marques Júnior, A. P., Martins, T. M., & Borges, Á. M. (2011). Abordagem diagnóstica e de tratamento da infecção uterina em vacas . *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, 293-298.
- Mateus, L., Lopes da Costa, L., Bernardo, F., & Robalo Silva, J. (2002). Influence of Puerperal Uterine Infection on Uterine Involution and Postpartum Ovarian Activity in Dairy cows. *Reproduction of Domestic Animals*, 31-35.
- Mateus, L., Lopes da Costa, L., Diniz, P., & Ziecik, A. J. (2003). Relationship between endotoxin and prostaglandin (PGE 2 and PGFM) concentrations and ovarian function in dairy cows with puerperal endometritis. *Animal Reproduction Science*, 143-154.
- Melendez, P., McHale, J., Bartolome, J., Archbald, L. F., & Donovan, G. A. (2004). Uterine Involution and Fertility of Holstein Cows Subsequent to Early Postpartum PGF 2 α Treatment for Acute Puerperal Metritis. *Journal of Dairy Science*, 3238-3246.

- Mihm, M., Crowe, M. A., Knight, P. G., & Austin, E. J. (2002). Follicle Wave Growth in Cattle. *Reproduction of Domestic Animals*, 191-200.
- Nakao, T., Gamal, A., Osawa, T., Nakada, K., Moriyoshi, M., & Kawata, K. (1997). Postpartum plasma PGF metabolite profile in cows Postpartum plasma PGF metabolite profile in cows Postpartum plasma PGF metabolite profile in cows. *Journal of Veterinary Medical Science*, 791-794.
- Nebel, R. L., & McGilliard, M. L. (1993). Interactions of High Milk Yield and Reproductive Performance in Dairy Cows. *Journal of Dairy Science*, 3257-3268.
- Niswender, G. D., Juengel, J. L., McGuire, W. J., Belfiore, C. J., & Wiltbank, M. C. (1994). Luteal Function: The Estrous and Early Pregnancy. *Biology of Reproduction*, 239-247.
- Noakes, D. E. (2001a). Endogenous and Exogenous Control of Ovarian Cyclicality. In T. Parkinson, G. England, & D. Noakes, *Arthur's Veterinary Reproduction and Obstetrics*, Eighth Edition (pp. 5-28). London, United Kingdom: Saunders.
- Noakes, D. E. (2001b). The Puerperium and the Care of the Newborn. In D. E. Noakes, T. J. Parkinson, & G. W. England, *Arthur's Veterinary Reproduction and Obstetrics*, 8th edition (pp. 189-204). London, United Kingdom: Saunders.
- Palmer, C. (2003). Postpartum metritis in cattle: A review of the condition and the treatment. *Rounds of the Department of Large Animal Clinical Sciences of the Western College of Veterinary Medicine* (pp. Volume 3, issue 8). Saskatoon, Saskatchewan: SNELL.
- Parkinson, T., & Noakes, D. (2001). Veterinary control of herd fertility. In D. E. Noakes, T. J. Parkinson, & G. C. England, *Arthur's Veterinary Reproduction and Obstetrics*, Eighth Edition (pp. 511-556). London, United Kingdom: Saunders, Elsevier.
- Patton, J., Kenny, D. A., Mee, J. F., O'mara, F. P., Wathes, D. C., Cook, M., et al. (2006). Effect of Milking Frequency and Diet on Milk Production, Energy Balance, and Reproduction in Dairy Cows. *Journal of Dairy Science*, 1478-1487.
- Pedernera, M., Garcia, S. C., Horagadoga, A., Barchia, I., & Fulkerson, W. J. (2008). Energy Balance and Reproduction on Dairy Cows Fed to Achieve Low or High Milk Production on a Pasture-Based System. *Journal of Dairy Science*, 3896-3907.
- Peter, A. T., Vos, P. M., & Ambrose, D. J. (2009). Postpartum Anestrus in Dairy Cattle. *Theriogenology*, 1333-1342.
- Plumb, D. C. (2005). *Plumb's Veterinary Drug Handbook*, Fifth Edition. E.U.A.: Blackwell Publishing.
- Potter, T. J., Guitian, J., Fishwick, J., Gordon, P. J., & Sheldon, I. M. (2010). Risk factors for clinical endometritis in postpartum dairy cattle. *Theriogenology*, 127-134.
- Pryce, J. E., Royal, M. D., Garnsworthy, P. C., & Mao, I. L. (2004). Fertility in the high-producing dairy cow. *Livestock Production Science*, 125-135.
- Radostits, O. M., Gay, C. C., Hinchcliff, K. W., & Constable, P. D. (2006). General systemic states. In O. M. Radostits, C. C. Gay, K. W. Hinchcliff, & P. D. Constable, *Veterinary Medicine A textbook of the diseases of cattle, sheep, goats, pigs and horses*, 10th edition (pp. 39-124). Toronto, Canada: Saunders, Elsevier.

- Ramsey, I. (2008). BSAVA, Small Animal Formulary, 6th Edition. Guarantee, England: BSAVA, British Small Animal Veterinary Association.
- Rathbone, M. J., Kinder, J. E., Fike, K., Kojima, F., Clopton, D., Ogle, C. R., et al. (2001). Recent advances in bovine reproductive endocrinology and physiology and their impact on drug delivery system design for the control of the estrous cycle in cattle. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 277-320.
- Risco, C. A., & Hernandez, J. (2003). Comparison of ceftiofur hydrochloride and estradiol cypionate for metritis prevention and reproductive performance in dairy cows affected with retained fetal membranes. *Theriogenology*, 47-58.
- Risco, C. A., Youngquist, R. S., & Shore, M. D. (2007). Postpartum Uterine Infections. In R. S. Youngquist, & W. R. Threlfall, *Current Therapy in Large Animal Theriogenology*, second edition (pp. 339-344). St Louis, Missouri: Saunders, Elsevier.
- Rocha, A., & Carnevalheira, J. (2002). Parâmetros reprodutivos e eficiência de inseminadores em explorações de bovinos de leite, em Portugal. *Congresso de Ciências Veterinárias*, (pp. 129-138). Oeiras.
- Roche, J. F. (2006). The Effect of Nutritional Management of the Dairy Cow on Reproductive Efficiency. *Animal Reproduction Science*, 282-296.
- Roelofs, J. B., van Eerdenburg, F. J., Soede, N. M., & Kemp, B. (2005). Various behavioral signs of estrous and their relationship with time of ovulation in dairy cattle. *Theriogenology*, 1366-1377.
- Royal, M. D., Darwash, A. O., Flint, A. P., Woolliams, J. A., & Lamming, G. E. (2000). Declining fertility in dairy cattle: changes in traditional and endocrine parameters of fertility. *Journal of Animal Science*, 487-501.
- Santos, J. P. (2008). Impact of Nutrition on Dairy Cattle Reproduction. *High Plains Dairy Conference*, (pp. 25-36). Albuquerque, NM.
- Sartori, R., Barros, C. M., & Wiltbank, C. M. (2011). Reproductive cycles in *Bos indicus* cattle. *Animal Reproduction Science*, 244-250.
- Savio, J. D., Boland, M. P., Hynes, N., & Roche, J. F. (1990). Resumption of Follicular Activity in the Early Post-partum Period of Dairy cows. *Journal of Reproduction and Fertility*, 569-579.
- Senger, P. L. (2001). REVIEW: Fertility Factors in High Producing Dairy Cows—Which Ones Are Really Important? *The Professional Animal Scientist*, 129-128.
- Senger, P. L. (2005). *Pathways to Pregnancy and Parturition*, 2nd revised edition. Washington, USA: Current Conceptions, inc.
- Sheldon, I. M. (2004). The postpartum uterus. *Veterinary Clinics of North American Food Animals Practice*, 569-591.
- Sheldon, I. M., Cronin, J., Goetze, L., Donofrio, G., & Schuberth, H. (2009). Defining Postpartum Uterine Disease and the Mechanisms of Infection and Immunity in the Female Reproductive Tract in Cattle. *Biology of Reproduction*, 1025-1032.
- Sheldon, I. M., Lewis, G. S., LeBlanc, S., & Gilbert, R. O. (2006). Defining Postpartum Uterine Disease in Cattle. *Theriogenology*, 1516-1530.

- Sheldon, I. M., Noakes, D. E., Rycroft, A. N., & Dobson, H. (2004). Effect of Intrauterine Administration of Oestradiol on Postpartum Uterine Bacterial Infection in Cattle. *Animal Reproduction Science*, 13-23.
- Sheldon, I. M., Noakes, D. E., Rycroft, A. N., Pfeiffer, D. U., & Dobson, H. (2002). Influence of uterine bacterial contamination after parturition on ovarian dominant follicle selection and follicle growth and function in cattle. *Reproduction*, 837-845.
- Sheldon, I. M., Williams, E. J., Miller, A. A., Nash, D. M., & Herath, S. (2008). Uterine diseases in cattle after parturition. *The Veterinary Journal*, 115-121.
- Slama, H., Vaillancourt, D., & Goff, A. K. (1993). Leukotriene B4 in Cows with Normal Calving, and in Cows with Retained Fetal Membranes and/or Uterine Subinvolution. *Canadian Journal of Veterinary Research*, 293-299.
- Stevenson, J. S. (2007). Clinical Reproductive Physiology of the Cow. In R. S. Youngquist, & W. R. Threlfall, *Current Therapy in Large Animals Theriogenology*, 2nd Edition (pp. 261-264). St Louis, Missouri: Saunders Elsevier.
- Wehrend, A., Failing, K., & Bostedt, H. (2003). Cervimetry and Ultrasonographic Observations of the Cervix Regression in Dairy Cows During the First 10 Days Post Partum. *Journal of Veterinary Medicine*, 470-473.
- Wiltbank, M. C., Lopez, H., & Sartori, R. (2005). Reproductive Hormones and Follicular Growth During Development of One or Multiple Dominant Follicles in Cattle. *Biology of Reproduction*, 788-795.

V. Anexos

Gráfico 3. Resultados do diagnóstico de gestação em animais tratados e não tratados.

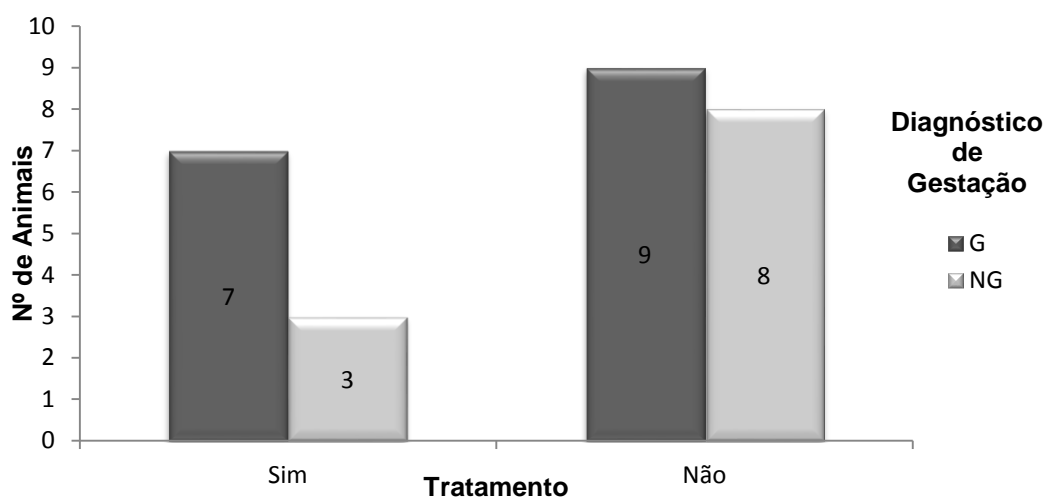


Gráfico 4. Representação gráfica da relação entre animais tratados e não tratados com o diagnóstico de gestação, em animais múltiparos.

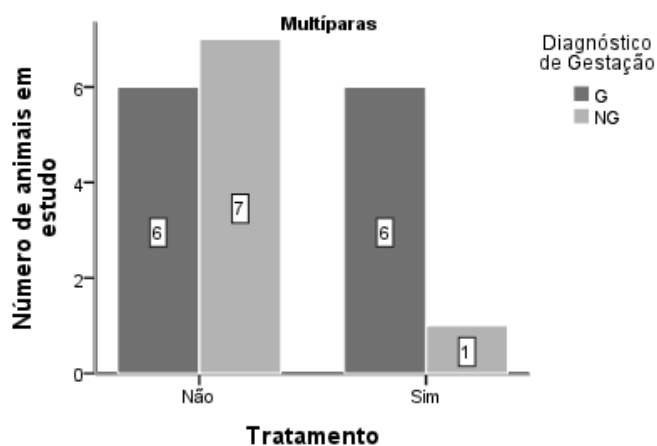


Gráfico 5. Representação gráfica da relação entre animais tratados e não tratados com o diagnóstico de gestação, em animais primíparas.

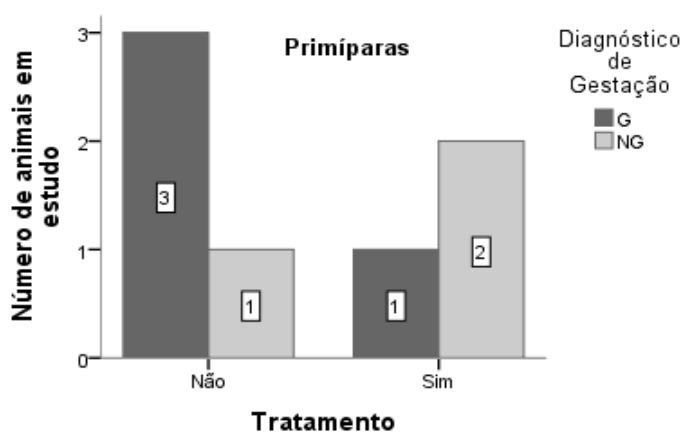


Tabela 15. Folha de Excel® que serviu de base de dados para a realização de cálculos, gráficos e tabelas, apresentados no capítulo dos resultados (ponto 4. do trabalho experimental).

Identificação do animal	Data de parto	Raça	Nº lactações	Lactações	Tratada ou não	Int. Parto-1ºcio	Int. Parto-1ªIA
1462	23-02-2011	Holstein	1	Primíparas	Sim	98	99
1493	25-02-2011	Holstein	1	Primíparas	Sim	56	57
1030	05-03-2011	Holstein	4	Múltiparas	Sim	75	76
1443	05-03-2011	Holstein	1	Primíparas	Sim	50	51
1097	19-04-2011	Holstein	3	Múltiparas	Sim	48	49
1288	19-04-2011	Holstein	3	Múltiparas	Sim	55	56
1024	23-04-2011	Holstein	4	Múltiparas	Sim	89	90
1347	23-04-2011	Holstein	4	Múltiparas	Sim	43	44
924	27-04-2011	Holstein	5	Múltiparas	Sim	48	49
1258	28-02-2011	Holstein	2	Múltiparas	Sim	71	72
1245	23-02-2011	Holstein	2	Múltiparas	Não	99	100
1468	28-02-2011	Holstein	1	Primíparas	Não	161	162
1453	01-03-2011	Holstein	1	Primíparas	Não	143	144
1285	03-03-2011	Holstein	2	Múltiparas	Não	50	51
1011	08-03-2011	Holstein	4	Múltiparas	Não	56	57
1193	14-03-2011	Holstein	2	Múltiparas	Não	88	89
870	14-03-2011	Holstein	5	Múltiparas	Não	67	68
1249	16-03-2011	Holstein	2	Múltiparas	Não	95	96
1431	16-03-2011	Holstein	1	Primíparas	Não	42	43
1179	17-03-2011	Holstein	4	Múltiparas	Não	40	41
1259	24-03-2011	Holstein	2	Múltiparas	Não	39	40
1448	30-03-2011	Holstein	1	Primíparas	Não	19	20
1261	04-04-2011	Holstein	2	Múltiparas	Não	59	60
843	12-04-2011	Holstein	8	Múltiparas	Não	58	59
1019	25-04-2011	Holstein	4	Múltiparas	Não	75	76
1363	25-04-2011	Holstein	2	Múltiparas	Não	86	87
1387	03-03-2011	Holstein	2	Múltiparas	Não	63	64

Tabela 15. (Continuação)

Id. animal	Int. Parto-IA fecundante	Datas das IA's	Nº de serviços	Diagnóstico de Gestação	Distócias	Intervalo entre estros ou serviços
1462	99	02-06-2011	1	NG	N	e
1493	57	24-04-2011	1	G	N	
1030	NG	20-05-2011 01-06-2011	2	NG	N	a
1443	NG	25-04-2011	1	NG	N	e
1097	49	07-06-2011	1	G	N	
1288	56	14-06-2011	1	G	N	
1024	90	22-07-2011	1	G	N	
1347	44	06-06-2011	1	G	N	
924	49	15-06-2011	1	G	N	
1258	72	11-05-2011	1	G	N	
1245	NG	03-06-2011	1	NG	N	e
1468	162	09-08-2011	1	G	N	
1453	144	23-07-2011	1	G	N	
1285	51	22-04-2011	1	G	N	
1011	NG	28-04-2011 09-08-2011	2	NG	N	e
1193	89	11-06-2011	1	G	N	
870	NG	21-05-2011	1	NG	N	e
1249	NG	20-06-2011 05-08-2011 10-10-2011	3	NG	N	d & e
1431	43	28-04-2011	1	G	N	
1179	NG	27-04-2011 10-06-2011	2	NG	N	d
1259	63	03-05-2011 26-05-2011	2	G	N	b
1448	NG	19-04-2011 02-05-2011	2	NG	N	a
1261	NG	03-06-2011 12-08-2011 07-09-2011	3	NG	N	e & c
843	59	10-06-2011	1	G	N	
1019	98	10-07-2011 01-08-2011	2	G	N	b
1363	NG	21-07-2011	1	NG	N	e
1387	132	06-05-2011 20-06-2011 13-07-2011	3	G	N	d & b

Legenda:

G – Gestante;

NG – Não gestante;

N - Normal

a – (2-17 dias);

b – (18-24 dias);

c – (25-35 dias);

d – (36-48 dias)

e – (+ de 48 dias)